

**Lichtschutz mit Mikropigmenten**

**Untersuchungen zur Penetration von Titandioxid**

**Mikropartikeln in humanes Stratum corneum**

Von der Gemeinsamen Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina  
zu Braunschweig

zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Naturwissenschaften  
(Dr. rer. nat.)

genehmigte

**D i s s e r t a t i o n**

von Stefan Gottbrath  
aus Osnabrück

1. Referentin:	Prof. Dr. C. C. Müller-Goymann
2. Referent:	Prof. Dr. T. Butz
eingereicht am:	29. 10. 2003
mündliche Prüfung (Disputation) am:	12. 02. 2004
 Druckjahr	 2004

Die vorliegende Arbeit entstand unter Anleitung von Frau Prof. Dr. C. C. Müller-Goymann am Institut für Pharmazeutische Technologie der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina zu Braunschweig.

Frau Prof. Dr. Christel C. Müller-Goymann

danke ich sehr herzlich für die Zuweisung des Themas, die erhaltene Unterstützung während der Bearbeitung, sowie für die ständige Diskussionsbereitschaft und persönliche Betreuung.

Herrn Prof. Dr. habil. T. Butz danke ich für die Anfertigung des Zweitgutachtens.

Ich möchte mich weiterhin bei allen technischen und wissenschaftlichen Mitarbeitern des Institutes für die erhaltene Unterstützung bei technischen und fachlichen Fragestellungen bedanken.

Mein besonderer Dank gilt Frau Ursula Jahn für die tatkräftige Hilfe bei den zahlreichen Penetrationsuntersuchungen.

Mein besonderer Dank gilt ebenfalls Herrn Dr. Grünefeld vom Institut für Pharmazeutische Chemie der TU Braunschweig, für die Durchführung der AAS-Messungen und die fachliche Hilfe bei analytischen Problemstellungen.

Weiterhin danke ich:

Herrn Dr. Hänsch, Institut für Botanik der TU Braunschweig, für die Meßmöglichkeit am TEM und die Einführung in verschiedene Präparationstechniken.

Herrn Menzel und Herrn Prof. Dr. habil. Butz, Institut für Experimentelle Physik II der Universität Leipzig, für die Penetrationsergebnisse an porciner Haut und die zur Verfügung gestellten Abbildungen.

Frau Dr. Carolin Bennat für die fachliche Unterstützung und die kritische Durchsicht des Manuskripts.

Teilergebnisse aus dieser Arbeit wurden mit Genehmigung der Gemeinsamen Naturwissenschaftlichen Fakultät, vertreten durch Frau Prof. Müller-Goymann, in folgenden Beiträgen vorab veröffentlicht:

### **Publikationen**

- S. Gottbrath, C.C. Müller-Goymann, Localization of titanium dioxide microparticles in the horny layer, The Essential Stratum Corneum (Marks, Lèvêque & Voegeli) Martin Dunitz Ltd. (2002) 207-209
- S. Gottbrath, J. Grünefeld, C.C. Müller-Goymann, Atomic absorption spectrometry for the determination of physical sunscreen filters, Trends In Dermatopharmacy Volume 1 (Wohlrab, Neubert, Marsch) Shaker Verlag (2002) 70-79
- S. Gottbrath, C.C. Müller-Goymann, Penetration and visualization of titanium dioxide microparticles in human stratum corneum – effect of different formulations on the penetration of titanium dioxide, SÖFW Journal (2003) 129 3 11-17

### **Tagungsbeiträge**

- S. Gottbrath, C.C. Müller-Goymann, Localization of titanium dioxide microparticles in the horny layer (Poster), Stratum Corneum III, Basel (2001)
- S. Gottbrath, C.C. Müller-Goymann, Untersuchung der Penetration von physikalischen Lichtschutzfiltern in die Haut mit Hilfe der Atomabsorptionsspektrometrie (Vortrag), Trends der Dermatopharmazie, Halle (2002)
- S. Gottbrath, C.C. Müller-Goymann, Detection of titanium dioxide in deeper layers of stratum corneum – influence of stabilization with hypromellose Ph. Eur. (Poster), 4rd World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics, Pharmaceutical Technology, Florenz (2002)
- S. Gottbrath, C.C. Müller-Goymann, Penetration von Titandioxid Mikropartikeln in humanes Stratum corneum und seine Visualisierung (Vortrag), DPhG Kongreß, Berlin (2002)



## **Inhaltsverzeichnis**

<b>1. Einleitung und Problemstellung</b>	<b>1</b>
<b>2. Allgemeiner Teil</b>	<b>3</b>
<b>2.1. UV-Strahlung</b>	<b>3</b>
2.1.1. Strahlenbereiche	3
2.1.2. Wirkungen der UV-Strahlung auf den humanen Organismus	4
2.1.2.1. UV-A Strahlung	4
2.1.2.2. UV-B Strahlung	5
2.1.2.3. UV-C Strahlung	7
<b>2.2. Lichtschutz</b>	<b>7</b>
2.2.1. Adaptionvorgänge der Haut	7
2.2.2. Lichtschutzfilter	10
2.2.2.1. Chemische Lichtschutzfilter	11
2.2.2.2. Physikalische Lichtschutzfilter	12
2.2.3. Mikrofeines Titandioxid	13
2.2.3.1. Herstellungsverfahren	14
2.2.3.2. Optische Eigenschaften	15
2.2.3.3. Einflußfaktoren auf den zu erreichenden SPF-Wert	17
2.2.3.4. Toxikologische Beurteilung	18
2.2.4. Mikrofeines Zinkoxid	19
<b>2.3. Aufbau der Epidermis</b>	<b>20</b>
2.3.1. Aufbau des Stratum corneum	21
<b>2.4. Penetration von Wirkstoffen in die Haut</b>	<b>22</b>
2.4.1. Penetration von mikrofeinen Titandioxidpartikel	24

<b>2.5. Stripping Verfahren mit Klebefilmstreifen</b>	<b>25</b>
<b>3. Material und Methoden</b>	<b>27</b>
<b>3.1. Material</b>	<b>27</b>
3.1.1. Titandioxid	27
3.1.1.1. Hydrophile Titandioxid Mikropigmente	27
3.1.1.2. Amphiphile Titandioxid Mikropigmente	27
3.1.1.3. Hydrophile Titandioxid Mikropigmentvordispersionen	28
3.1.2. Bestandteile der Formulierungen	28
3.1.3. Weitere verwendete Materialien	29
3.1.4. Wasser	29
<b>3.2. Methoden</b>	<b>30</b>
3.2.1. Vorgehensweise bei den humanen in-vivo	
Penetrationsuntersuchungen	30
3.2.1.1. Stripping-Verfahren mit Klebefilmstreifen	30
3.2.1.2. Skin surface biopsy technique (SSB)	30
3.2.2. Spektroskopische Methoden	31
3.2.2.1. In-vitro Bestimmung des Lichtschuttfaktors	31
3.2.2.2. Atomabsorptionsspektrometrie (AAS)	32
3.2.2.2.1. Probenaufbereitung	32
3.2.2.2.2. Geräteparameter	33
3.2.2.3. UV-VIS Spektrometer	35
3.2.3. Mikroskopische Methoden	35
3.2.3.1. Invertoskop	35
3.2.3.2. Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)	36
3.2.3.2.1. Gefrierbruch der halbfesten Zubereitungen	36
3.2.3.2.2. Negativkontrastierung	37

3.2.3.2.3. Aufarbeitung der Klebefilmstreifen	37
3.2.4. Röntgenographische Methoden	37
3.2.4.1. Röntgenweitwinkeldiffraktometrie (WAXD)	37
3.2.5. Röntgenographische Methoden am Institut für Experimentelle Physik II (Universität Leipzig)	38
3.2.5.1. Particle induced x-ray emission (PIXE)	38
3.2.5.2. Probenaufbereitung für die PIXE Messungen	39
3.2.6. Herstellung der titandioxidhaltigen Zubereitungen	39
3.2.6.1. Herstellung der Liposomenzubereitung	39
3.2.6.2. Herstellung von Titandioxid-Dispersionen auf Basis einer mizellaren Lösung	40
3.2.6.3. Herstellung der stabilisierten mizellaren Formulierungen	41
3.2.6.4. Lagerbedingungen der stabilisierten mizellaren Formulierungen	41
3.2.7. Rheologie	42
3.2.8. Oberflächenbestimmung	42
3.2.9. Porenbestimmung	43
<b>4. Versuchsergebnisse und Diskussion</b>	<b>44</b>
<b>4.1. Physikochemische Charakterisierung der Mikropigmente</b>	<b>44</b>
4.1.1. Oberflächenbestimmung	44
4.1.2. Porenbestimmung	45
4.1.3. Bestimmung der wahren Dichte	46
4.1.4. Bestimmung der Partikelgröße	46
4.1.5. Röntgenweitwinkeluntersuchungen	47
4.1.6. Zusammenfassende Diskussion der physikochemischen Charakterisierung der Mikropigmente	48

<b>4.2. Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen der Formulierungen</b>	<b>50</b>
4.2.1. Aufnahmen der Vordispersionen	50
4.2.2. Aufnahmen des Handelsproduktes	51
4.2.3. Aufnahmen der mizellaren Formulierung	53
4.2.4. Aufnahmen der liposomalen Formulierung	53
4.2.4.1. Aufnahmen nach Gefrierbruch	53
4.2.4.2. Aufnahmen nach Negativkontrastierung	55
4.2.5. Zusammenfassende Diskussion der transmissionselektronenmikroskopischen Aufnahmen der Formulierung	56
<b>4.3. Ergebnisse der in-vitro Lichtschuttfaktorbestimmung</b>	<b>57</b>
4.3.1. Abhängigkeit der Lichtschuttfaktoren von der Titandioxidkonzentration	57
4.3.2. Einfluß der Hochdruckhomogenisierung auf den Wert des Lichtschuttfaktors der mizellaren Formulierung	58
4.3.3. Zusammenfassende Diskussion der Ergebnisse der Lichtschuttfaktorbestimmungen	59
<b>4.4. Rheologische Messungen zur Untersuchung der Lagerstabilität von titandioxidhaltigen Formulierungen</b>	<b>60</b>
4.4.1. Lagerstabilitäten der Aerosil® stabilisierten mizellaren Formulierung	60
4.4.2. Lagerstabilitäten der HPMC stabilisierten mizellaren Formulierung	64
4.4.2.1. Lichtschuttfaktoren der HPMC stabilisierten mizellaren Formulierung	65
4.4.2.2. Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme der HPMC der stabilisierten mizellaren Formulierung	66
4.4.3. Zusammenfassende Diskussion zur Untersuchung der Lagerstabilität der titandioxidhaltigen Formulierungen	67

<b>4.5. Untersuchungen zur Penetration von mikrofeinem Titandioxid in</b>	
<b>    Humanhaut</b>	<b>68</b>
4.5.1. Penetrationsuntersuchungen mit dem Handelsprodukt Eucerin®	
Micropigment Creme	68
4.5.2. Penetrationsuntersuchungen mit dem Handelsprodukt Eucerin®	
Micropigment Creme nach Mehrfachapplikation	72
4.5.3. Penetrationsuntersuchungen mit der mizellaren Formulierung	73
4.5.4. Penetrationsuntersuchungen der Aerosil® stabilisierten mizellaren	
Formulierungen	75
4.5.5. Penetrationsuntersuchungen der HPMC stabilisierten mizellaren	
Formulierungen	77
4.5.6. Penetrationsuntersuchungen mit einer liposomalen Formulierung	81
4.5.7. Penetrationsuntersuchungen mit einer mizellaren Formulierung	
(Reinigungstest)	83
4.5.8. Penetrationsuntersuchungen mit einer liposomalen Formulierung	
(Reinigungstest)	86
4.5.9. Langzeituntersuchungen zur Penetration von mikrofeinem Titandioxid	
in Humanhaut	89
4.5.9.1. Penetrationsuntersuchungen mit einer liposomalen Formulierung	
(Langzeituntersuchung)	90
4.5.9.2. Penetrationsuntersuchung mit einer Eusolex® T-2000 enthaltenden	
liposomalen Formulierung (Langzeituntersuchung)	92
4.5.9.3. Penetrationsuntersuchung mit einer DMSO enthaltenden mizellaren	
Lösung (Langzeituntersuchung)	95
4.5.10. Zusammenfassende Diskussion zur Penetration von mikrofeinem	
Titandioxid in Humanhaut	98
 <b>4.6. Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen des Stratum</b>	
<b>    Corneums</b>	<b>100</b>
4.6.1. Aufnahmen der Klebefilmstreifen	100

4.6.2. Zusammenfassende Diskussion der transmissionselektronenmikroskopischen Aufnahmen des Stratum corneums	102
<b>5. Abschlußdiskussion</b>	<b>103</b>
5.1. Einfluß der physikochemischen Eigenschaften der Titandioxid Mikropartikel auf das Ergebnis der Penetration in humanes Stratum corneum	103
5.2. Galenische Stabilisierung der Titandioxid Mikropartikel	104
5.3. Darstellung ausgewählter Ergebnisse des Instituts für Experimentelle Physik II der Universität Leipzig	105
5.4. Einfluß der unterschiedlichen Formulierungen auf das Penetrationsverhalten der Titandioxid Mikropartikel	112
<b>6. Zusammenfassung</b>	<b>114</b>
<b>7. Literaturverzeichnis</b>	<b>116</b>
<b>8. Anhang</b>	<b>127</b>
8.1. Einzelwerte der Lichtschuttfaktorbestimmung	127
8.2. Einzelwerte der rheologischen Messungen zur Lagerstabilität der titandioxidhaltigen Formulierungen	128
8.2.1. Messungen der Aerosil® stabilisierten mizellaren Formulierungen	128
8.2.1.1. Lagerung bei Raumtemperatur	128
8.2.1.2. Lagerung im Schaukelschrank	132
8.2.2. Messungen der HPMC stabilisierten mizellaren Formulierungen	136
8.2.2.1. Lagerung bei Raumtemperatur	136
8.2.2.2. Lagerung im Schaukelschrank	140

## 1. Einleitung und Problemstellung

Berichte über das wachsende Ozonloch und die steigenden Zahlen der Hautkrebserkrankungen, welche im direkten Zusammenhang mit einer steigenden ungeschützten Sonnenexposition zu sehen sind, führten zu einem verstärkten Bewußtsein der Menschen gegenüber den schädlichen Auswirkungen einer zunehmenden Sonnenexposition. Die in den letzten Jahren gestiegene Verwendung von Sonnenschutzmitteln ist als Indiz dafür zu sehen.

Die gewonnenen medizinischen Erkenntnisse über die schädigenden Wirkungen von UV-A Strahlen förderten den Wunsch eine Schutzwirkung über den gesamten UV-Bereich zu erhalten, so daß neben Filtern im UV-B Bereich ebenfalls Filter für den UV-A Bereich in den letzten Jahren stärkere Anwendung fanden. Die bei Auftrag von chemischen Lichtschutzfiltern beobachtete Bildung von reaktiven Zwischenprodukten auf der Haut und die damit verbundenen unerwünschten Hautreaktionen führten zu einer verstärkten Nachfrage nach physikalischen Lichtschutzfiltersubstanzen. Anwendung finden Substanzen, deren Lichtschutz auf einer Reflektion und Streuung der UV-Strahlen basiert. In diesem Zusammenhang sind besonders partikuläre Filtersubstanzen wie Titandioxid oder Zinkoxid zu nennen. Eingesetzt werden jedoch nur Substanzen mit einer Primärpartikelgröße zwischen 20 und 100 nm. Die Verringerung der Partikelgrößen auf einen Wert bis zu 20 nm und der damit zurückgedrängte Weißeffect auf der Haut führt zu einer verbesserten kosmetischen Akzeptanz der Produkte. Weitere Vorteile der physikalischen Lichtschutzfiltersubstanzen sind in der Photostabilität der Substanzen und der Schutzwirkung über einen weiten Wellenlängenbereich zu sehen.

Kritisch bewertet wird jedoch bei der Anwendung der sogenannten partikulären Mikropigmente der Aspekt der dermalen Penetration. Eine Penetration der Mikropigmente wäre verbunden mit einer Abnahme der Schutzwirkung vor den UV-Strahlen und der Gefahr von unerwünschten Hautreaktionen.

Das Ziel der später beschriebenen Penetrationsexperimente war es weitere Erkenntnisse über das Penetrationsverhalten der Mikropigmente in die Humanhaut zu erhalten. Mögliche Einflußfaktoren wie unterschiedliche Grundlagen, in die das verwendete Mikropigment eingearbeitet wurde, fanden ebenso Berücksichtigung wie der zeitliche Verlauf der Penetration.

Bei der Einarbeitung der Mikropigmente in Sonnenschutzformulierungen ist das Ziel eine galenische Stabilisierung der Mikropigmente innerhalb der Formulierungen. Der optimale Lichtschuttfaktor einer Mikropigment enthaltenden Sonnenschutzformulierung ist nur bei einer homogenen Verteilung der Mikropigmente zu erreichen. Eine Aufrechterhaltung der homogenen Verteilung über die angegebene Anwendungsdauer ist für die Beibehaltung des deklarierten Lichtschuttfaktors entscheidend. Die große spezifische Oberfläche und die Oberflächenladung der Mikropigmente fördern jedoch die starke Agglomerationsneigung und die damit verbundene Sedimentation der Mikropartikel, welches zu einer Erniedrigung des Lichtschuttfaktors führt. Ziel war es die zu Beginn der Herstellung erreichte Verteilung der Mikropartikel innerhalb der Formulierung durch eine galenische Stabilisierung aufrecht zu erhalten, wobei verschiedene Methoden für eine objektive Beurteilung des Sedimentationsverhaltens Anwendung fanden.

In diesem Zusammenhang wurde ebenfalls ein möglicher Einfluß der zur Stabilisierung der Mikropartikel eingesetzten Hilfsstoffe auf das Ergebnis der Penetration der Mikropartikel in die Epidermis untersucht.

Neben den humanen Penetrationsuntersuchungen wurden in Zusammenarbeit mit dem Institut für Experimentelle Physik II der Universität Leipzig mit ausgewählten Formulierungen ebenfalls Penetrationsuntersuchungen an porciner Haut durchgeführt. Die erhaltenen Ergebnisse wurden den humanen Penetrationsergebnissen gegenübergestellt.



## 2. Allgemeiner Teil

### 2.1. UV-Strahlung

#### 2.1.1. Strahlenbereiche

Das sichtbare Licht umfaßt den Wellenlängenbereich von 380 – 780 nm, dem sich im langwelligen Bereich der Infrarotbereich und im kurzwelligen Bereich der Ultraviolettbereich von 100 – 380 nm anschließt. Der letztgenannte Bereich wird aufgrund von unterschiedlichen physiologischen Wirkungen auf die Haut in die UV-Bereiche A, B und C aufgeteilt [1]. Die Wellenlängenbereiche werden in der folgenden Tabelle (Tab. 2.1) dargestellt, sie folgen den Angaben des Fachnormausschusses Lichttechnik des DIN Deutsches Institut für Normung e.V. [2].

Benennung	Wellenlängenbereich
UV-C	100 nm bis 280 nm
UV-B	280 nm bis unter 315 nm
UV-A	315 nm bis unter 380 nm
UV-A <sub>2</sub>	315 nm bis 340 nm
UV-A <sub>1</sub>	340 nm bis 380 nm

Tabelle 2.1: Benennung der Wellenlängen [2]

Die genannte UV-Strahlung erreicht nur zum Teil als Strahlung die Erdoberfläche, da sie bereits durch Absorption, Streuung und Reflektion beim Durchtritt der Erdatmosphäre abgeschwächt wird [3]. Die UV-C Strahlung im Bereich unter 200 nm wird vom Sauerstoffanteil in der Atmosphäre stark absorbiert, wohingegen die Wellenlängen im Bereich bis zu 290 nm vom Ozon absorbiert werden. Eine Verringerung der Ozonschicht und eine damit verbundene stärkere Durchlässigkeit für UV-C Strahlen würde zur Vernichtung von niedrigen organischen Lebewesen führen. Dies zeigt auch die Gefahren, die in der starken Abnahme der Ozonschicht (in den Jahren 1979 bis 1985 sank der Ozongehalt in der Stratosphäre um einen Wert von 50 %) liegen [4].

Die auf der Erdoberfläche auftreffende Strahlung, im Wellenlängenbereich von 300 – 3000 nm, variiert sehr stark in ihrer quantitativen Zusammensetzung. Die

Zusammensetzung der Strahlung ist abhängig von unterschiedlichsten Faktoren wie Sonnenhöhe, geographische Lage, Ozongehalt und Ausmaß der Luftverschmutzung [2]. Beispielhaft sollen die Anteile der unterschiedlichen Strahlenbereiche an der Gesamtstrahlung in der folgenden Tabelle 2.2 aufgezeigt werden.

<b>Benennung</b>	<b>Anteil an der Gesamtstrahlung</b>
UV-B	0,4 %
UV-A	5,6 %
VIS	52,0 %
IR	42,0 %

Tabelle 2.2: Anteile der Strahlenbereiche an der Gesamtstrahlung [5]

Die auf die Erdoberfläche treffende Strahlung hat zahlreiche Auswirkungen auf den menschlichen Organismus. In diesem Zusammenhang zu nennen ist die Infrarot Wärmestrahlung und im besonderen die Wirkung der UV-Strahlung auf die humane Haut, welche im nächsten Kapitel näher erläutert wird.

### **2.1.2. Wirkungen der UV-Strahlung auf den humanen Organismus**

#### **2.1.2.1. UV-A Strahlung**

Im Gegensatz zu den UV-B Strahlen besitzen die längerwelligen UV-A Strahlen einen höheren prozentualen Anteil an der auf der Erde auftreffenden Gesamtenergie des Sonnenlichts (UV-A = 5,6 %; UV-B = 0,4 %). Der erhöhte Anteil wird durch die verringerte Streuung der längerwelligen UV-A Strahlen verursacht. Es erfolgt noch eine weitere Differenzierung der UV-A Strahlen in UV-A<sub>1</sub> bzw. UV-A<sub>2</sub>, wie es bereits in Tabelle 2.1 dargestellt ist.

Die unterschiedlichen Auswirkungen der einzelnen Strahlenbereiche auf den Organismus sind eng verknüpft mit der Durchlässigkeit der Haut für Licht verschiedener Wellenlängen. Eine Verringerung der Wellenlänge führt zu einer Erhöhung der Strahlungsenergie, wobei jedoch die Eindringtiefe abnimmt [6], denn es erfolgt eine hohe Absorption der kurzwelligen Strahlung in der Epidermis. Dennoch ist die Strahlung in den tieferliegenden Schichten der Dermis und Subcutis photochemisch aktiv.

UV-A Strahlung kann das dermale Bindegewebe ebenso erreichen, wie auch die kutanen Blutgefäße. Schädigungen des Bindegewebes sind auf die durch die UV-A Strahlen verursachte Austrocknung des Bindegewebes zurückzuführen, welche zu einer aktinischen Elastose führt und einer damit verknüpften vorzeitigen Hautalterung [7].

Ein akuter Lichtschaden in Form eines Erythems bedingt durch eine alleinige UV-A Strahlung kann nicht beobachtet werden, jedoch führt die erhöhte Energieeinstrahlung zur Ausbildung eines Wärmeerythems. Von UV-B Strahlen verursachte akute Lichtschäden wie das Strahlenerythem, aber auch chronische Lichtschäden wie Hautkarzinome werden durch eine, vor oder nach der UV-B Exposition stattfindende UV-A Strahleneinwirkung, verstärkt (Photoaugmentation) [8]. Eine direkte Pigmentierung der Haut durch die Nachdunklung farbschwacher Melanin-Vorstufen erfolgt ebenfalls durch die Einwirkung von UV-A Strahlen [9].

Bei Abwesenheit von Photosensibilisatoren kann keine direkte Veränderung der Nucleoproteine oder Aktivitätsverminderung der Enzyme bei Einwirkung von UV-A Strahlung beobachtet werden. Neuere Untersuchungen sprechen der UV-A<sub>2</sub> Strahlung jedoch eine ähnlich direkte Schädigung der DNA zu, wie sie auch von UV-B Strahlen erzeugt wird. UV-A<sub>1</sub> Strahlen schädigen die DNA indirekt über die Bildung von freien Radikalen und reaktivem Sauerstoff [10]. Die Induzierung von Radikalen gilt ebenfalls als wesentlicher Faktor des Hautalterungsprozesses [9].

Bis vor wenigen Jahren standen nur wenige Lichtschutzmittel mit einem wirksamen UV-A Schutz zur Verfügung. Die Anwendung von hohen Lichtschutzfaktoren verlängerte die Aufenthaltsdauer in der Sonne und führte zu einer stärkeren UV-A Belastung, welches in der Entwicklung von Präparaten mündete die gleichzeitig einen wirksamen UV-A und UV-B Schutz gewährleisten [11].

#### **2.1.2.2. UV-B Strahlung**

Bei der Exposition der Haut mit UV-B Strahlen sind die entstehenden Schäden auf unterschiedliche Ursachen zurückzuführen. Es sind zu nennen die Freisetzung von Mediatoren wie Histamin, Kinine und Prostaglandine, ebenso die Freisetzung von freien Radikalen und eine Schädigung der DNA-Strukturen innerhalb der Zellkerne [2]. Die Freisetzung der Mediatoren bedingt in unterschiedlichen Ausprägungen das Zustandekommen der Ultraviolettstrahlenreaktion des Körpers. Histamin ist

verantwortlich für die Sofortreaktion des Körpers, Kinine stellen die Auslöser des Hautschmerzes dar und die Prostaglandine bedingen die entzündlichen Reaktionen. Eine durch die UV-Strahlung verursachte Radikalbildung führt zur Aktivierung der Phospholipase  $A_2$ , welche Membranlipide in ungesättigte  $C_{20}$ -Säuren (z.B. Arachidonsäure) umwandelt, welche wiederum unter Beteiligung der Cyclooxygenase in cyclische Endoperoxide überführt werden. Die cyclischen Endoperoxide stellen die Vorstufe dar für die verschiedenen Prostaglandine [12]. Prostaglandine steigern den intrazellulären Gehalt an AMP, welches ein Aussetzen der Mitose zur Folge hat. Der Organismus verhindert durch diesen Vorgang die Weitergabe von UV-bedingten DNA-Schäden an Tochterzellen [2].

Die Absorption im UV-B Wellenlängenbereich führt zu Veränderungen an den Nucleoproteinen der Zellkerne. Dimerisierungen der Pyrimidin-Bausteine, Einzelstrangbruch, Protein-Vernetzung und Hydratationen der Cytosin-Bausteine sind die Folge [13]. Reparaturenzyme beheben ständig die UV-induzierten DNA-Schäden durch Austausch der fehlerhaften Bausteine. Bei zu starker DNA-Schädigung wird der Suizid der Zelle (Apoptose) durch das Protein p53 eingeleitet. Liegen nun im Protein p53 selbst Mutationen vor, so kann der programmierte Zelltod durch das geschädigte Protein nicht mehr ausgeführt werden [14]. Die DNA-Schädigung stellt auch das erste Stadium der Entstehung des Hautkarzinoms dar. UV-B Belastungen bedingen eine exponentiell steigende Zunahme der Hautkarzinome, bedingt durch die hervorgerufene DNA-Schädigung und die Konversion prämaligener Zellen zu malignen Zellen [2].

Der karzinogene Effekt des UV-Lichts wird durch seine immunsuppressive Wirkung weiter verstärkt. UV-Licht führt zu Defekten an Antigen-präsentierenden Zellen und zu einer verstärkten Bildung von T-Suppressorzellen, so daß Tumorzellen der Immunüberwachung entgehen können [15].

Die UV-B induzierte Bildung der cis-Urocaninsäure wird als Auslöser der immunsuppressiven Wirkung der UV-B Strahlen diskutiert. Neben dem lokal immunsuppressiven Effekt ist auch ein systemischer immunsuppressiver Effekt zu beobachten [16]. Unter UV-B Strahlung kommt es auch zu einer Abnahme der Langerhanszellen in den bestrahlten Hautpartien. Die Langerhanszellen haben eine zentrale Bedeutung in der antigenen Erkennung und Präsentation der Antigene im Hautorgan [16].

Das ebenfalls gebildete Prostaglandin  $E_1$  ist Auslöser der entzündlichen Reaktion und hat eine starke vasodilatatorische und permeabilitätsstörende Wirkung [2].

Das häufig nach UV-B Strahlenexposition auftretende Strahlenerythem, äußert sich in Form einer Rötung und Schwellung. Diese Reaktionen treten nach Überschreiten einer minimalen Erythemdosis und einer Latenzzeit von 2 – 5 Stunden an den betroffenen Hautarealen auf. Eine Überlastung der Repairmechanismen und die damit verbundenen irreparablen Kernschädigungen treten bereits bei Erreichen von 60% der Erythemschwelle auf [17].

Zu den physiologisch erwünschten Wirkungen des UV-Lichtes gehört die Bildung von Ergocalciferol (Vitamin  $D_2$ ) und Cholecalciferol (Vitamin  $D_3$ ) nach Einwirkung von UV-B Strahlen im Wellenlängenbereich von 300-310 nm auf die Haut [2]. Die besonders von UV-B Strahlen beeinflussten Pigmentierungsvorgänge werden im folgenden Kapitel „Adaptionsvorgänge der Haut“ eingehender betrachtet.

#### **2.1.2.3. UV-C Strahlung**

Die UV-C Strahlung wird von Ozon und dem Sauerstoff der Atmosphäre absorbiert und trifft nicht auf die Erdoberfläche. UV-C Strahlen führen zu Schädigungen des Stratum corneums. Sie werden u.a. angewendet zur Raumdesinfektion und aus diesem Grund müssen Personen, die künstlichen UV-C Strahlen ausgesetzt sind, einen ausreichenden Augenschutz sicherstellen. UV-C Strahlen sind kanzerogen und erythemwirksam.

### **2.2. Lichtschutz**

#### **2.2.1. Adaptionsvorgänge der Haut**

Im Strahlenspektrum der Sonne bewirkt jede Strahlenart (Infrarot -, UV-Bereich usw.) charakteristische Adaptionsmechanismen der Haut. Ein Teil der Sonnenstrahlen, welche auf die Haut treffen, werden direkt von ihr reflektiert, wobei der Anteil der reflektierten Strahlung sehr gering ist. Die Reflektion der Strahlung erfolgt nicht ausschließlich an der Hautoberfläche, sondern auch innerhalb der Haut [6]. Die Schutzmechanismen der Haut können in folgende Vorgänge gegliedert werden [2]:

- Biochemische Adaption
- Ausbildung einer Lichtschwiele
- Anregung der Repairmechnismen
- Bildung von Melanin

Bei der biochemischen Adaption handelt es sich um eine Erhöhung der Lichttoleranz durch den sofortigen Verbrauch der in der Haut vorhandenen Mediatoren. Die Ausbildung der Lichtschwiele beruht auf einer lichtinduzierten Störung des Regelmechanismus der Zellteilung innerhalb der Basalzellschicht. Die Mitose läuft über einen Zeitraum von etwa 72 h unkontrolliert ab (bei mechanischer Abnutzung der Oberhaut hält die Zellteilung über einen Zeitraum von 48 h an), dies führt zu einer Verdoppelung der Epidermisdicke und damit zu einer Verringerung der Eindringtiefe von UV-Strahlen [18].

Die bei UV-bedingten Schäden aktivierten Repairmechanismen wurden bereits im Kapitel 2.2. (Wirkungen der UV-Strahlung auf den humanen Organismus) erwähnt. Repairmechanismen sind zu unterteilen in Exzisionsreparatur, bei der die geschädigten Stellen des DNA-Stranges durch intakte Glieder ersetzt werden, und die Photoreaktivierung, bei der die entstandenen Pyrimidin-Dimere enzymatisch wieder aufgespalten werden [2].

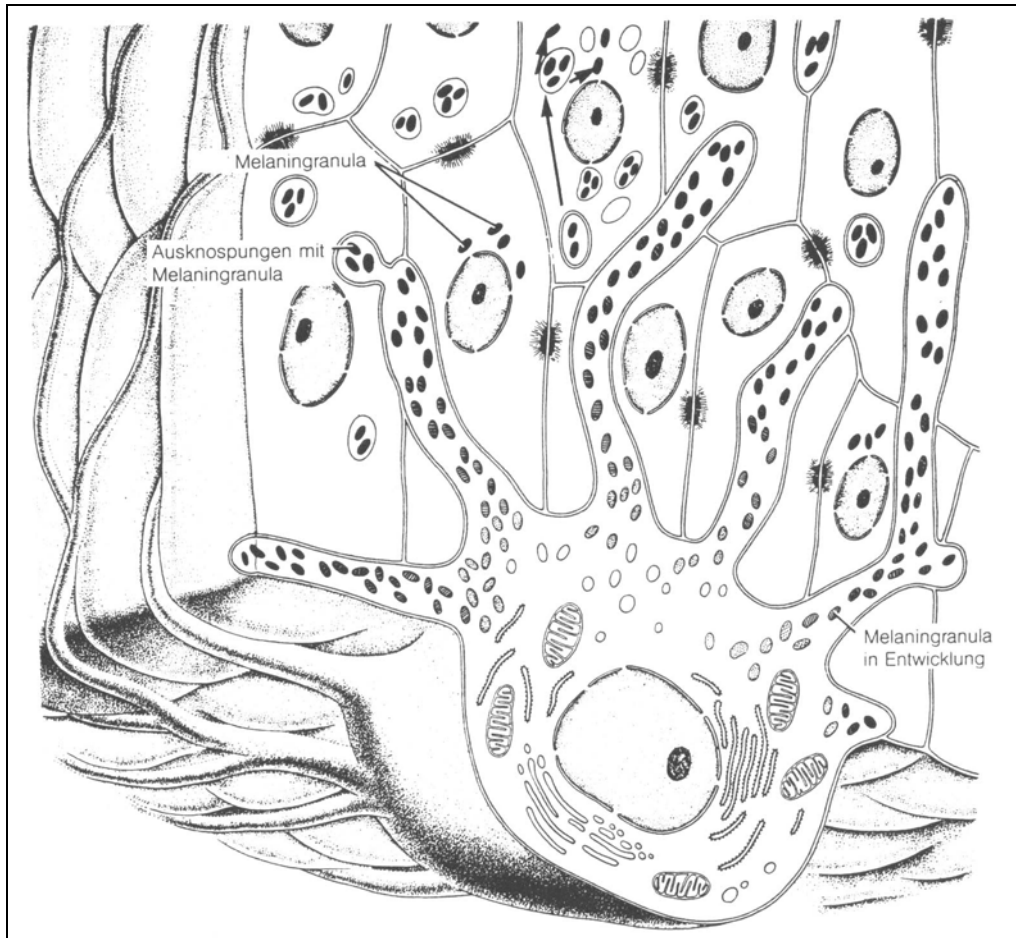


Abbildung 2.1: Schematische Darstellung eines Melanozyten [53]

Ultraviolette Strahlung führt zu einer Stimulierung der Melanozyten, welche sich in der Basalzellschicht der Epidermis befinden (siehe Abbildung 2.1). Es kommt zur Bildung von Melanosomen (Organellen der Melanozyten), die die kleinsten Bausteine der Melaninpigmentierung darstellen. Die Melanozyten stehen mit Hilfe von dünnen Zellfortsätzen in Kontakt zu benachbarten Epidermiszellen und übertragen durch Zytokrinie die Melanosomen auf diese Epidermiszellen. Melanosomen enthalten wichtige Enzyme (Tyrosinase) der Melaninsynthese, wobei als Zwischenprodukt Dihydroxyphenylalanin (DOPA) gebildet wird. Melanin stellt ein unlösliches Polymerisationsprodukt des Tyrosins dar [19]. Tyrosinase wird sowohl von UV-B Strahlen aktiviert, als auch von UV-A Strahlen mit hoher Intensität (siehe Abbildung 2.2). Das in die Keratinozyten eingebrachte Melanin legt sich kappenförmig über den Zellkern und schützt vor auftreffenden Strahlen [2]. Melanin fungiert ebenfalls als Radikalfänger [20]. Die Dauerpigmentierung wird erst nach einigen Tagen sichtbar,

wenn die pigmentierten Zellen aus der Basalzellschicht an die Hautoberfläche wandern [21].

Bei der Sofortpigmentierung werden farblose Melaninvorstufen (Prämelanine) durch die Einwirkung von UV-A Strahlen zu pigmentierten Verbindungen umgewandelt und es kommt zur Umverteilung von grob verteilten, heller wirkenden Melanosomen zu einer feineren Verteilung von stärker gefärbten Melanosomen (siehe Abbildung 2.2) [21].

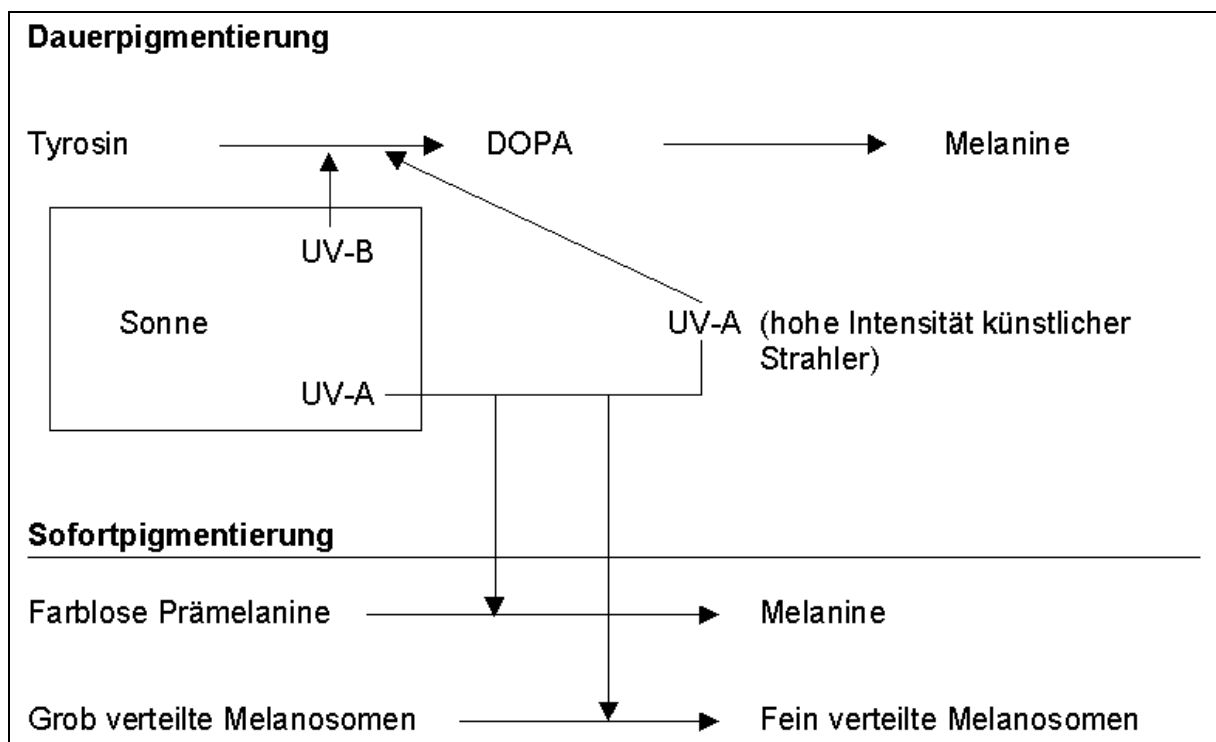


Abbildung 2.2: Pigmentierungsarten der menschlichen Haut [21]

Die durch UV-A Strahlungseinwirkung auftretende Sofortpigmentierung tritt bereits ein bis zwei Stunden nach Strahlungsexposition auf, ist aber bereits nach einem Zeitraum von 24 h wieder verschwunden. Dieser Effekt der UV-A Strahlen wird auch als Immediate-pigment-darkening (IPD)-Effekt bezeichnet [21].

### 2.2.2. Lichtschutzfilter

Lichtschutzmittel haben die Aufgabe die bereits genannten Adaptionsvorgänge der Haut zu unterstützen und zu entlasten und damit eine Verlängerung der Strahlenexpositionszeit ohne Lichtschäden zu erreichen. Der Lichtschutz wird



erreicht durch Absorption, Reflektion oder Streuung der auftreffenden Strahlen wie in Abbildung 2.3 zu erkennen. Eine Unterteilung der Lichtschutzfilter erfolgt in chemische und physikalische Lichtschutzfilter.

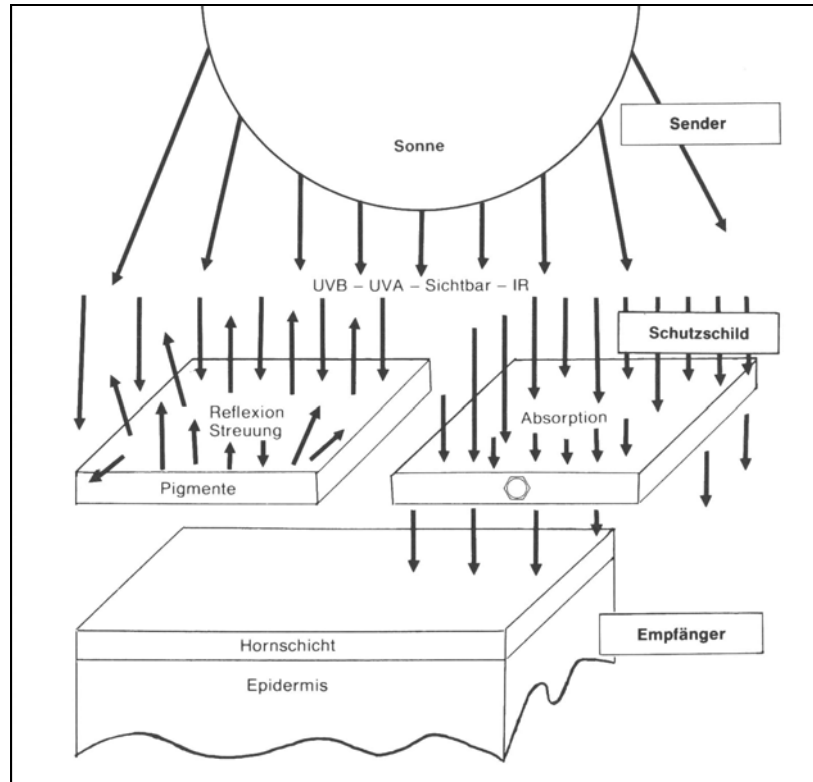


Abbildung 2.3: Darstellung der Wirkprinzipien von physikalischen und chemischen Lichtschutzfiltern [2]

### 2.2.2.1. Chemische Lichtschutzfilter

Chemische Lichtschutzfilter absorbieren aufgrund ihres aromatischen Charakters und des vorhandenen konjugierten Doppelbindungssystems im ultravioletten Wellenlängenbereich. Verwendet werden u.a. Derivate der Grundstrukturen von p-Methoxy-Zimtsäure, p-Aminobenzoeäure und Benzophenon, die in Abhängigkeit von den Substituenten am Ring ein unterschiedliches Absorptionsspektrum zeigen [2]. Bei der Absorption der ultravioletten Strahlen werden die Elektronen von inneren Bahnen auf äußere Bahnen und damit auf ein höheres Energieniveau angehoben. Beim Übergang in den Grundzustand wird die aufgenommene Energie wieder als längerwellige Strahlung abgegeben. Dies kann in Form einer Wärmestrahlung erfolgen, aber auch Fluoreszenzstrahlung kann beobachtet werden [22].

Ein häufig beobachteter Nachteil der beschriebenen Substanzen ist die schlechte Hautverträglichkeit, die sich in der Auslösung von Kontaktallergien, Photoallergien und phototoxischen Reaktionen zeigt [7]. Die Entstehung von Abbauprodukten der aufgetragenen chemischen Lichtschutzfilter mit allergenen Eigenschaften kann durch photochemische Sekundärreaktionen begünstigt werden (Photoallergie). Die bei der Sonneneinstrahlung absorbierte Energie kann auch direkt auf die Hautzellen übertragen werden (Phototoxizität) [2].

Das allergene und toxikologische Risiko ist eng verknüpft mit dem Penetrationsvermögen der verwendeten Filtersubstanzen. Einfluß auf das Penetrationsvermögen übt die Grundlage aus, in der die Filtersubstanz eingearbeitet ist [23]. Die Grundlage beeinflusst nicht nur die Penetration sondern auch den Lichtschutzfaktor [24]. Bereits geringe Penetrationsraten können aufgrund der großflächigen Anwendung zu einer starken Anreicherung der Filtersubstanz innerhalb des Körper führen. Neuere Strategien zur Vermeidung der transdermalen Aufnahme von Lichtschutzfiltersubstanzen sehen die Einkapselung von chemischen Lichtschutzfiltern in Solid Lipid Nanoparticles [25] oder in Mikrokapseln vor [26, 27]. Eine Penetration in das Stratum corneum mit einer damit verbundenen erhöhten Resistenz gegenüber Wasser und Schweiß ist jedoch positiv zu bewerten [28].

#### **2.2.2.2. Physikalische Lichtschutzfilter**

Die Verarbeitung von anorganischen Substanzen wie Zinkoxid und Eisenoxid sowie Pigmenten (Titandioxid) zu streichfähigen Suspensionszubereitungen ergibt hochwirksame Sonnenschutzmittel [29]. Die Mikropigmente entfalten ihren Sonnenschutz direkt nach dem Auftragen der Präparate. Bei den physikalischen Lichtschutzfiltersubstanzen erfolgt der Sonnenschutz nicht, wie im Vergleich mit den chemischen Lichtschutzfiltersubstanzen, nur über eine Absorption der Strahlung, sondern zusätzlich über eine Reflektion und Streuung der eintreffenden Sonnenstrahlen. Die physikalischen Lichtschutzfilter gewähren einen Schutz über einen weiten Wellenlängenbereich, der nicht nur den ultravioletten Bereich einschließt, sondern auch Teile des sichtbaren und infraroten Bereichs umfaßt. Aus diesem Grunde finden sie auch häufig Anwendung in sogenannten Sunblock-Präparaten.

Die Anwendung von Formulierungen mit handelsüblichen Weißpigmenten ist aufgrund des ausgeprägten Weißeffektes und der damit verbundenen geringen kosmetischen Akzeptanz nicht vorgesehen. Es kommen deshalb Mikropigmente zum Einsatz, dies sind im besonderen Titandioxid mit einer Partikelgröße von 10 – 50 nm und Zinkoxid mit einer Partikelgröße von 100 nm. Der Begriff Mikropigment ist insofern falsch gewählt, als es sich um Pigmente im Nanometer-Bereich handelt, in der Literatur ist er jedoch ein häufig verwendeter Begriff und wird deshalb auch im folgenden beibehalten. Parallel findet sich auch der Begriff Nanopigment in der Literatur [17].

Diese Mikropigmente erfüllen die Anforderungen an Sonnenschutzmittel hinsichtlich Transparenz und wirksamem Schutz gegen ultraviolette Strahlen [30]. Mikropigmente werden toxikologisch als unbedenklich eingestuft. Mögliche Okklusiveffekte mit Porenverlegung nach Anwendung von Mikropigmenten können Follikelentzündungen verursachen [31]. Mikropigmente werden in Sonnenschutzprodukten häufig in Kombination mit chemischen Lichtschutzfiltern verwendet, um deren Konzentration zu senken. Die Erhöhung der Filterkonzentration in Sonnenschutzmitteln und der Einsatz der Lichtschutzfiltersubstanzen in der Tageskosmetik kann zu einer Zunahme der epidermalen Sensibilisierung führen. Diese Reaktionen sind nicht nur auf die Lichtschutzfiltersubstanzen zurückzuführen, sondern auch auf die durch Bestrahlung entstandenen Abbauprodukte. Bei einigen Produkten ist ebenfalls eine durch UV-Bestrahlung abnehmende Lichtschutzwirkung zu erkennen, welches die Hersteller durch den Einsatz von mikronisierten Titandioxidpartikeln und Verbesserung der Rezeptur zu vermeiden suchen [32].

Der Anteil der Handelsprodukte, deren Lichtschutz allein auf dem Einsatz von physikalischen Lichtschutzfiltersubstanzen beruht, ist in den letzten Jahren stetig gestiegen.

### **2.2.3. Mikrofeines Titandioxid**

Titandioxid erscheint in der Natur in drei unterschiedlichen Kristallstrukturen, wobei nur Rutil und Anatas kommerziell eingesetzt werden, Brookit hingegen nicht. Bei allen erwähnten Modifikationen ist das Titan-Atom oktaedrisch von sechs Sauerstoffatomen umgeben, wobei die unterschiedlichen Modifikationen durch unterschiedliche Verknüpfungspunkte des Oktaeders über Kanten und Ecken

entstehen. Abbildung 2.4 stellt exemplarisch eine tetragonale Elementarzelle des Rutils dar.

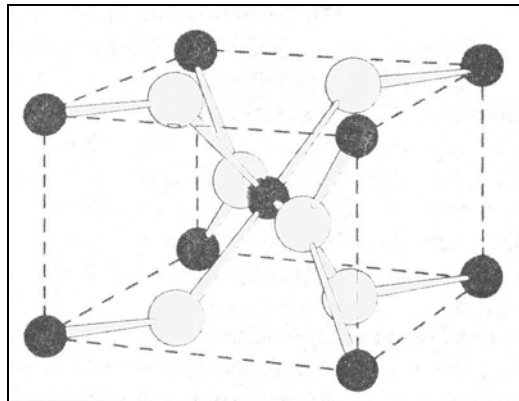


Abbildung 2.4: Tetragonale Elementarzelle des Rutils,  $\text{TiO}_2$  (dunkle Kreise stellen die Titanatome dar, helle Kreise die Sauerstoffatome)[33]

Rutil ist die thermodynamisch stabilste der drei Titandioxid Modifikationen. Bei einer Temperatur von  $1080^\circ\text{C}$  wird Anatas exotherm in Rutil überführt [34]. In Abhängigkeit vom verwendeten Herstellungsverfahren treten bei den oben genannten Kristallstrukturen unterschiedliche Kristallformen auf, es sind nadelförmige und sphärische Kristalle möglich [35]. Rutil weist eine stärkere photoprotektive Wirkung auf als das weniger verbreitete Anatas [36].

#### **2.2.3.1. Herstellungsverfahren**

Bereits ab 1970 erschienen erste japanische Patente über die Herstellung von Titandioxidmikropartikeln [35].

Ein mögliches Verfahren zur Herstellung von mikrofeinem Titandioxid ist die Flammenhydrolyse von Titan-tetrachlorid, welches dem Verfahren zur Herstellung von Aerosil<sup>®</sup> angelehnt ist [37]. Titan-tetrachlorid wird bei Temperaturen von  $900-1400^\circ\text{C}$  zu Titandioxid verbrannt.

Ein Patent der Firma Kemira basiert auf einem naßchemischen Verfahren, welches als Ausgangsprodukt eine Titanhydrolysat-Aufschlämmung verwendet. Das vorhandene Titanhydrat wird nach einem vorgeschalteten Kristallisationsprozeß als Titandioxid-Hydrat gefällt. Nach der Kalzination werden die erhaltenen Partikeln dispergiert und gemahlen. Ein Coating mit anorganischen Materialien schließt sich zur Verringerung der photokatalytischen Aktivität an. Abschließend erfolgt ein

Coating mit organischen Materialien zur Verbesserung der Dispergiereigenschaften [43].

### 2.2.3.2. Optische Eigenschaften

Titandioxid findet aufgrund seiner Einstufung als toxikologisch unbedenklicher Stoff Anwendung sowohl in Lebensmitteln, als auch in Arzneimitteln.

Titandioxide mit einer Partikelgröße von 200 - 220 nm werden als Pigment in der dekorativen Kosmetik eingesetzt. Mikrofeine Titandioxide finden Anwendung als Filtersubstanzen in Sonnenschutzformulierungen. Sie nehmen eine Sonderstellung ein zwischen den absorbierenden und reflektierenden Substanzen, da sie neben der titandioxideigenen Fähigkeit zur Absorption von ultravioletten Strahlen auch auf Grund der Teilchengröße von unter 100 nm ein geringes Streuvermögen im sichtbaren Bereich aufweisen [35]. Die Abbildung 2.5 verdeutlicht den Einfluß der Partikelgröße auf das Streuvermögen. Dargestellt ist die Wellenlängen abhängige Streuung eines Titandioxidpigments mit einer Partikelgröße von 500 nm und von mikrofeinen Titandioxidpartikeln mit einer Partikelgröße von 15-25 nm [36]. Mit einer Verringerung der Teilchengröße steigt die Zahl der reflektierenden Flächen an.

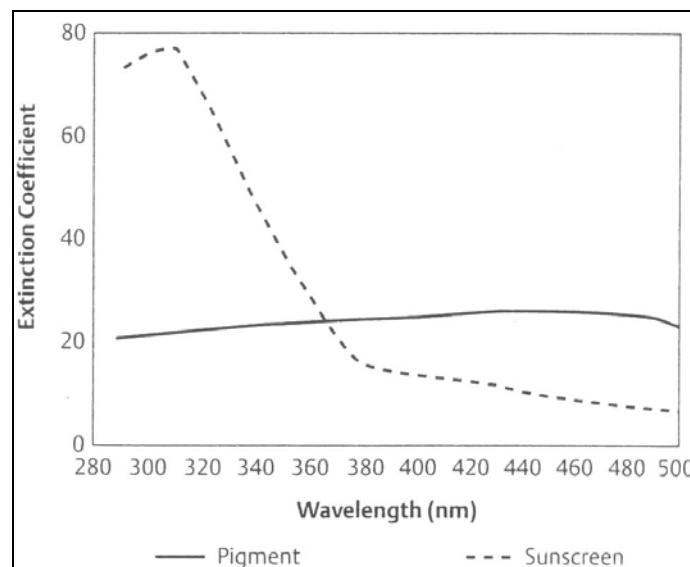


Abbildung 2.5: Wellenlängen abhängige Reflektion eines Titandioxid Pigments (500 nm, nicht unterbrochene Linie) und von mikrofeinem Titandioxid (15 - 25 nm, gestrichelte Linie) [36]

Es tritt Streuung nach der Theorie von Mie auf, wenn die Wellenlänge des auftreffenden Lichtes kleiner ist als der Partikeldurchmesser. Bei einem Partikeldurchmesser von unter 30 nm muß für die Streuung die Rayleigh Theorie angewendet werden [39]. Die Verringerung der Partikelgröße (20 - 50 nm) unterdrückt das Streuvermögen im sichtbaren Bereich und verschiebt es in den ultravioletten Bereich [40]. Das relative Streuvermögen ist eine Funktion der Wellenlänge. Bei Verringerung der Partikelgröße verschiebt sich das Maximum des Streuvermögens hin zu kürzeren Wellenlängen [30]. Die theoretisch erwartete Transparenz im sichtbaren Bereich ist durch das Vorhandensein von harten Agglomeraten mit tatsächlichen Partikelgrößenverteilungen von 200 - 2000 nm nicht zu gewährleisten [35].

Titandioxid besitzt gegenüber zahlreichen chemischen Lichtschutzfiltern den Vorteil eines breiten Wirkungsspektrums [41]. Die maximale Absorption von Titandioxid mit einer Partikelgröße von 20 nm liegt im UV-B Bereich bei 300 nm [31].

Mikrofeine Titandioxide stellen Photoleiter dar, da sie die Strahlungsenergie durch einen Elektronenübergang vom Valenz- in das Leitungsband aufnehmen [35]. Zwischen dem Valenzband und dem energiereicheren Leitungsband besteht ein Abstand von 3,05 eV bei Rutil und 3,29 eV bei Anatas. Der Elektronenübergang ist somit möglich bei einer Wellenlänge von 415 nm für Rutil, bzw. einer Wellenlänge von 385 nm für Anatas [37]. Die entstehende Elektronenlücke im Valenzband wird geschlossen entweder durch das Zurückfallen des angeregten Elektrons oder durch äußere Oxidationswirkung, wodurch an der Kristalloberfläche Hydroxyl- oder Perhydroxylradikale entstehen können. Innerhalb von Picosekunden werden 90% der Elektronenlücken wieder gefüllt, einige Lücken persistieren aber über einen Zeitraum von mehreren Nanosekunden [42]. Das Valenzband von mikrofeinem Titandioxid bevorzugt die Auffüllung von Elektronen von außen, es wirkt deshalb stark oxidierend [17].

Die durch den Elektronenübergang vom Valenz- in das Leitungsband induzierte Reduktion des  $\text{Ti}^{4+}$  zu  $\text{Ti}^{3+}$  führt zu einer Farbveränderung des Titandioxids. Die Anwesenheit von  $\text{Ti}^{3+}$  führt zur Bildung des  $[\text{Ti}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ -Komplexes, der bei Lichtbestrahlung eine grau/blau Verfärbung der Produkte zeigt [35]. Der Kristallstruktur Rutil wird eine verbesserte Photostabilität zugesprochen [43]. Ein Coating der Titandioxidpartikel soll die Photostabilität erhöhen und somit die Bildung von Radikalen und die Reduktion des Titans zurückdrängen. Die verwendeten

Materialien werden entweder chemisch oder physikalisch an das Titandioxid gebunden [44]. Radikalreaktionen sind für eine Vielzahl von entzündlichen Hautreaktionen und degenerativen Prozessen verantwortlich [21].

Die für das Coating verwendeten unterschiedlichen Materialien wie Aluminiumoxid, Siliciumdioxid, Siloxane oder Stearinsäure beeinflussen darüber hinaus ebenfalls die Dispergiereigenschaften der Mikropartikel.

#### **2.2.3.3. Einflußfaktoren auf den zu erreichenden Lichtschuttfaktor (SPF-Wert)**

Die Effektivität einer Lichtschutzformulierung wird ausgedrückt durch die Angabe des Lichtschuttfaktors (sun protecting factor = SPF). Der SPF-Wert ist definiert als der Quotient aus der Erythemschwellendosis für die durch die Sonnenschutzformulierung geschützte Haut und der Erythemschwellendosis für die ungeschützte Haut [2].

Bei der Verwendung von mikrofeinem Titandioxid wird der SPF beeinflusst von der verwendeten Formulierung und der darin erreichten Dispergierung der Titandioxidpartikel [45].

Kriterium für die Verarbeitbarkeit von mikrofeinen Titandioxidpartikeln ist die Dispergierfähigkeit der Titandioxidpartikel. Mikropigmente neigen aufgrund der großen spezifischen Oberfläche und der Ladungsstruktur zur Agglomeration. Die durch van der Waals Kräfte und Feuchtigkeit entstehenden weichen Agglomerate im Pulver können durch geringen Energieeintrag leicht redispergiert werden, dies zeigt sich auch in der nach Energieeintrag ansteigenden UV-Effizienz. Eine schlechtere UV-Effizienz zeigt sich dagegen jedoch beim Vorhandensein von harten Agglomeraten. Deren Bildung ist abhängig vom verwendeten Herstellprozeß und ist durch herkömmliche Dispergiermethoden nachträglich nur wenig zu beeinflussen [35]. Der Vergleich der Ergebnisse von mikroskopischen Auswertungen mit Ergebnissen von SPF Messungen zeigt, daß dispergierte Titandioxidpartikel in Formulierungen einen höheren SPF zeigen als aggregierte Partikel [45]. Eine Agglomeration der Partikel beeinträchtigt nicht nur das Absorptionsvermögen, sondern bedeutet ebenfalls einen Verlust der kosmetischen Akzeptanz des Produkts (Weißeleffekt) [7]. Zur Erzielung eines effektiven UV-Schutzes mit einer titandioxidhaltigen Formulierung muß gewährleistet sein, daß während der Herstellung der Formulierung und nach Auftrag der Formulierung auf der Haut es zu keiner verstärkten

Agglomeration der Partikel kommt [46]. Ziel der galenischen Stabilisierung muß es daher sein, die erreichte Dispergierung der Partikel aufrecht zu erhalten.

Das Verhältnis der Brechzahlen von Pigment und Medium, die Teilchengröße und Teilchengrößenverteilung, der Grad der Lichtabsorption und die Wellenlänge des eingestrahlt Lichtes beeinflussen das Deckvermögen eines Stoffes in einer Suspension. Ist das Verhältnis der Brechungsindices  $< 1$ , so ist das System transparent. Das Deckvermögen ist um so größer, je größer der Unterschied der Brechzahlen von Pigment und Medium ist. Zinkoxid hat einen relativ hohen Brechungsindex mit ca. 2,0 [38].

Der Brechungsindex von Rutil liegt bei 2,75, bzw. 2,55 für Anatas [34].

Die Einarbeitung von Filtersubstanzen in die innere oder äußere Phase beeinflusst den Lichtschuttfaktor. Die Anwesenheit der Filtersubstanz in der äußeren Phase, üblicherweise chemische Filtersubstanzen, führt im Allgemeinen zur Erzielung höherer Lichtschuttfaktoren [44].

Wie bereits erwähnt hat die verwendete Grundlage ebenfalls einen Einfluß auf den Lichtschuttfaktor, Cremes zeigen häufig einen höheren Wert für den Lichtschuttfaktor als z.B. Gele oder wässrig alkoholische Lösungen, dies ist zu erklären mit dem schnellen Abdampfen des Alkohols und dem dadurch entstehenden dünnen und diskontinuierlichen Film auf der Haut [44].

#### **2.2.3.4. Toxikologische Beurteilung**

Titandioxid wird von vielen Autoren als toxikologisch unbedenklich eingestuft [30]. Bei oraler Gabe von Titandioxid, mit einer Partikelgröße von 500 nm, wurde eine Aufnahme aus dem Gastrointestinaltrakt von Ratten beobachtet mit anschließender Delokalisierung der Partikel in andere systemische Organe [47]. Untersuchungen bei menschlichen Probanden zeigten eine Persorption des Titandioxids über den Gastrointestinaltrakt, welches zu einer Erhöhung des Titan-Blutspiegels führte [48]. Ebenfalls wurde eine Aufnahme und Anreicherung von Titandioxid Mikropartikeln in lymphatische Makrophagen beobachtet. Die Zellen wurden durch die Aufnahme der Mikropartikel jedoch nicht zerstört [49].



#### 2.2.4. Mikrofeines Zinkoxid

Mikrofeines Zinkoxid zeigt einen Strahlenschutz über einen breiten Wellenlängenbereich und durch die gegebene gute Hautverträglichkeit findet es häufig Einsatz in Sonnenschutzpräparaten. Es hat wie Titandioxid streuende und absorbierende Eigenschaften. Das relative Streuvermögen ist abhängig von der Partikelgröße. Der Extinktionsverlauf von Zinkoxidpartikeln mit einer Partikelgröße von 100 nm ist in Abbildung 2.6 dargestellt, deutlich ist der Abfall der Extinktion bei einer Wellenlänge von 380 nm sichtbar. Zinkoxid bietet einen Schutz vor UV-A und UV-B Strahlen.

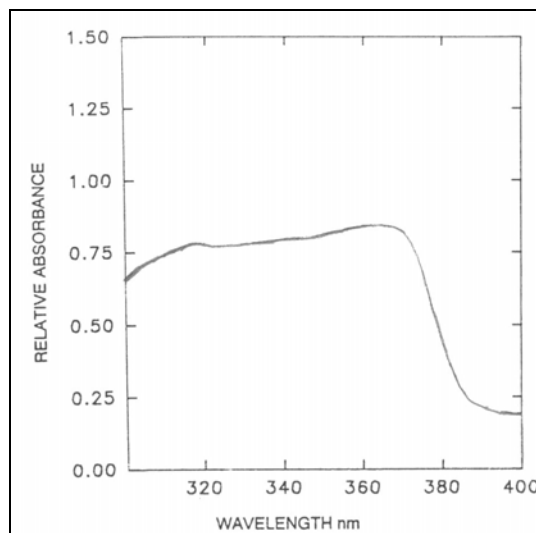


Abbildung 2.6: Extinktionsverlauf von mikrofeinem Zinkdioxid mit einer Partikelgröße von 100 nm [50]

Die maximale Absorption von Zinkoxid mit einer Partikelgröße von 100 nm liegt im UV-A Bereich bei 370 nm [31].

Zinkoxidpartikel zeigen bei einer Partikelgröße von 100 nm einen optimalen Schutz vor ultravioletter Strahlung, bei weiterer Partikelverkleinerung kommt es aufgrund der Oberflächenvergrößerung zu einer höheren Reaktivität mit anderen Komponenten der Zubereitung [51].

Verschiedene Herstellungsverfahren ermöglichen die Produktion von Zinkoxidpartikeln mit einer Partikelgröße von 100 nm. Für den Einsatz im kosmetischen Bereich geeignet sind das indirekte französische Verfahren, wobei metallisches Zink bei einer Temperatur  $> 907^{\circ}\text{C}$  verdampft wird und unter

kontrollierten Bedingungen mit Luft zu Zinkoxid umgesetzt wird [38, 50]. Einsatz findet auch ein naßchemisches Verfahren, bei dem gereinigte Lösungen von Zinksulfat oder Zinkchlorid eingesetzt werden, um basisches Carbonat zu fällen, welches gewaschen, filtriert und kalziniert wird [38].

Die Dispergiereigenschaften von Zinkoxid stehen im engen Zusammenhang mit dessen Oberflächeneigenschaften. Mit Verringerung der Teilchengröße vergrößert sich die spezifische Oberfläche. Die spezifische Oberfläche von mikrofeinem Zinkoxid liegt zwischen 50 und 150 m<sup>2</sup>/g [38]. Im Vergleich zu Titandioxid mit gleicher Partikelgröße ist jedoch die Dispergierbarkeit von Zinkoxid verbessert [17].

Mikrofeines Zinkoxid stellt auf Grund seiner mikrobiologischen Eigenschaften ein wirksames Konservierungsmittel dar, wobei die Effektivität von mikrofeinem Zinkoxid weitaus höher ist als von größeren Zinkoxidpartikeln.

Die Kombination von mikrofeinem Zinkoxid mit chemischen Lichtschutzfiltersubstanzen führt zu einer starken Erhöhung des SPF-Wertes. Erklärt wird dieser synergistische Effekt mit einer Maximierung des UV-B Schutzes und einer Absorption im UV-A<sub>2</sub> Bereich, welches entscheidend ist für die Erzielung eines hohen SPF-Wertes [52].

Zinkoxid findet in einer Konzentration bis zu 20% Einsatz in kosmetischen Formulierungen [38].

### **2.3. Aufbau der Epidermis**

Die Haut stellt das Grenzorgan des Körpers mit der Umwelt dar. Sie wird in drei Bereiche unterteilt: die Epidermis, die Dermis und die Subcutis, das Unterhautfettgewebe.

Die Epidermis stellt die oberste Hautschicht dar und hat die wichtige Barrierefunktion gegenüber der Umwelt. Sie besteht je nach Körperregion aus vier oder fünf unterschiedlichen Schichten (siehe Abbildung 2.7).

Das Stratum basale stellt die unterste Schicht der Epidermis dar und grenzt an die obere Dermis. Ungefähr 1% der Zellen der Basalzellschicht sind mitotisch aktiv. Die neugebildeten Zellen erfahren bei ihrem Weg durch die einzelnen Schichten der Epidermis eine weitergehende Differenzierung. Eingegliedert in das Stratum basale sind die Melanozyten, die in Abhängigkeit von der Körperregion in einer Dichte von 500 bis 2000/m<sup>2</sup> auftreten [19].

An die Basalzellschicht schließt sich das Stratum spinosum an, welche aus zwei bis fünf Zellschichten besteht, in ihr befinden sich vorwiegend die Langerhans-Zellen, welche Bestandteile des Immunsystems darstellen.

Es folgt das Stratum granulosum mit ein bis drei Zellschichten, dort erfolgt die vollständige Differenzierung und der Zelltod.

Das Stratum lucidum ist nur an den Fußsohlen und den Handinnenflächen zu finden, d.h. an Orten, die einer starken Beanspruchung ausgesetzt sind.

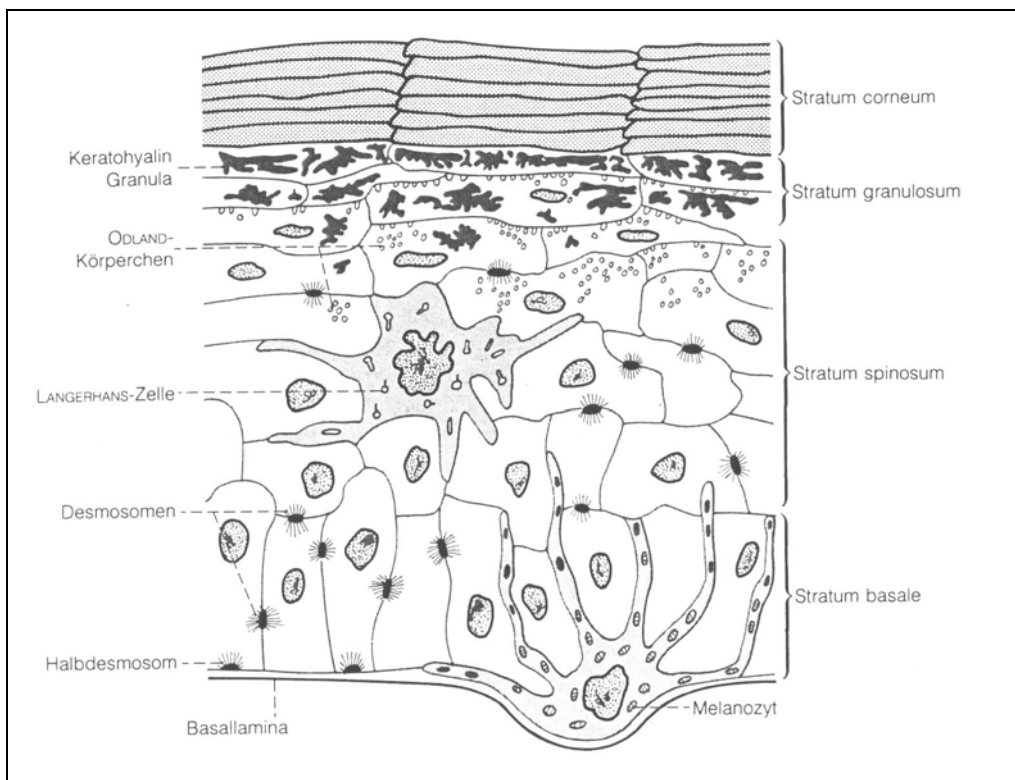


Abbildung 2.7: Aufbau der Epidermis [19]

Das Stratum corneum stellt die äußere Schicht der Epidermis dar. Der Aufbau des Stratum corneums wird im folgenden Kapitel näher erläutert.

### 2.3.1. Aufbau des Stratum corneum

Das Stratum corneum besitzt eine Dicke von ungefähr 10 µm und besteht in Abhängigkeit von der Körperregion aus 15 – 25 Zellschichten, an den stark beanspruchten Fußsohlen können es bis zu 100 sein. Es wird unterteilt in einen festen Anteil, der pars compacta, welcher aus eng verzahnten Korneozyten besteht.

Die während der Differenzierung erfolgte Abflachung der Korneozyten führt zu Zellen mit einer Länge von bis zu 30 µm und einer Dicke zwischen 0,5 – 0,8 µm [53].

Das Stratum disjunctum, welches aus den Zellen der oberflächlichen Schicht besteht, wird laufend unmerkbar abgestoßen. Innerhalb von 28 Tagen wird die gesamte Epidermis durch diesen Vorgang erneuert. Im Interzellularraum zwischen den Korneozyten bilden Lipide lamellare Doppelschichten aus. Bei den Bestandteilen handelt es sich um Ceramide, Cholesterin und Fettsäuren. Die Synthese der Lipide erfolgt in den Keratinozyten des Stratum spinosum, wo sie in kleineren Vesikeln, den sogenannten Odland bodies, gespeichert werden. Beim Übergang vom Stratum granulosum in das Stratum corneum werden die Lipide durch Exozytose in den Interzellularraum freigesetzt. Sie sind maßgeblich für die Barriereigenschaften der Epidermis verantwortlich.

#### **2.4. Penetration von Wirkstoffen in die Haut**

Nach topischer Applikation eines Wirkstoffes ist nicht nur die lokale Wirkung zu betrachten, sondern es ist ebenfalls die systemische Verfügbarkeit zu berücksichtigen, die aber eine Aufnahme des Wirkstoffes über das Stratum corneum hinaus voraussetzt.

Die Penetration von Substanzen wird durch vielfältige Faktoren beeinflusst, die im folgenden kurz erläutert werden. Der physiologische bzw. pathophysiologische Zustand der Haut und dort insbesondere der Hydrationszustand kann die Penetration von Substanzen wesentlich beeinflussen. Eine durch Okklusion erreichte verstärkte Hydratation kann im Vergleich zu trockener Haut zu einer 5 – 10mal schnelleren Penetration führen [21]. Eine Einflußnahme ist ebenfalls durch die physikalisch-chemischen Eigenschaften des Wirkstoffes und der Formulierung gegeben. Wirkstoffe mit einer großen Affinität zum Stratum corneum zeigen eine verstärkte Penetration. Die ausgewählte Formulierung und die damit verbundenen Wechselwirkungen mit dem Wirkstoff sind in der Weise entscheidend, daß eine in der Formulierung schwer lösliche Substanz leichter an das Stratum corneum abgegeben wird und damit eine stärkere Penetration zeigt, als eine Substanz mit einer verbesserten Löslichkeit. Entscheidend ist ebenfalls die Größe der applizierten Wirkstoffmoleküle und ihre Konzentration in der Formulierung.

Der Einsatz von Penetrationsenhancern beschleunigt die Wirkstoffaufnahme in die Haut. Die Funktion der Penetrationsenhancer besteht in einer reversiblen Ausschaltung der Barrierefunktion der Haut, indem sie z.B. mit den interzellulären Lipiddoppelschichten interagieren.

Der aufgetragene Arzneistoff kann auf unterschiedlichen Wegen in das Stratum corneum penetrieren. Die Aufnahme erfolgt entweder transepidermal oder durch Poren.

Bei der transepidermalen Penetration wird unterschieden zwischen dem interzellulären und dem transzellulären Weg (siehe Abbildung 2.8). Polare Wirkstoffe passieren bevorzugt auf dem transzellulären Weg das Stratum corneum [54]. Bei der transzellulären Route führt der Weg der Wirkstoffe direkt durch die Korneozyten entlang der Keratinfilamente und durch den Interzellularraum.

Die häufigste Penetrationsroute stellt jedoch der interzelluläre Weg dar, bei dem die Wirkstoffe zwischen den Korneozyten entlang der lamellaren Schichten der Stratum corneum Lipide in die tieferen Schichten der Haut penetrieren. Bei der interzellulären Route müssen die Wirkstoffe die hochgeordneten Strukturen der interzellulären Lipide passieren [55].

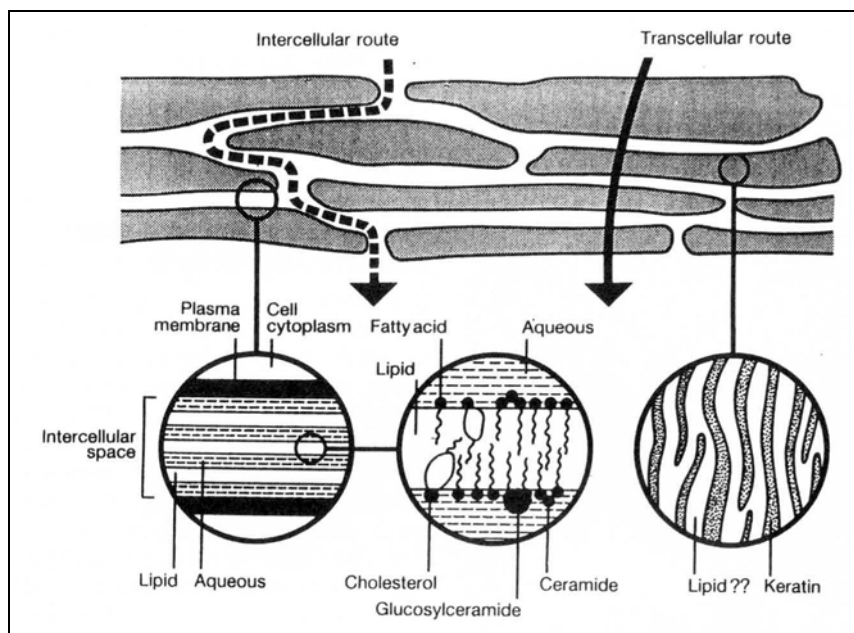


Abbildung 2.8: Penetrationswege durch das Stratum corneum nach Barry [56]

Eine Penetration über die Hautanhangsgebilde wie Haarfollikel, Talgdrüsen oder Schweißdrüsen ist weitgehend ohne Bedeutung, da ihr Anteil an der Hautoberfläche nur etwa 0,1 bis 1,0 Prozent beträgt [54].

#### **2.4.1. Penetration von mikrofeinen Titandioxidpartikeln**

Das photokatalytische Potential der Titandioxidpartikel wird oft in Zusammenhang mit dem Sicherheitsaspekt des topischen Auftrags von partikulären Lichtschutzmitteln diskutiert. [57] Die geringe Partikelgröße von 20 – 30 nm führt zu einer Reduzierung des Weißeffektes, jedoch kann eine Penetration in humanes Stratum corneum gefördert werden. Einfluß auf das Penetrationsvermögen übt ebenso die Grundlage aus, in der der Wirkstoff eingearbeitet ist [23]. Ebenfalls können einzelne Bestandteile der Formulierungen die Penetration von Filtersubstanzen beeinflussen [44].

Die Räume zwischen den Korneozyten weisen eine Breite von bis zu 100 nm auf, diese Breite ist weitgehend unabhängig von der Entfernung zur Hautoberfläche [54]. Zusätzlich zur interzellulären Penetration der Mikropartikel muß ebenfalls eine mögliche Penetration über Hautanhangsgebilde, wie Schweißdrüsen und Talgdrüsen mit in Betracht gezogen werden (siehe Abbildung 2.9).

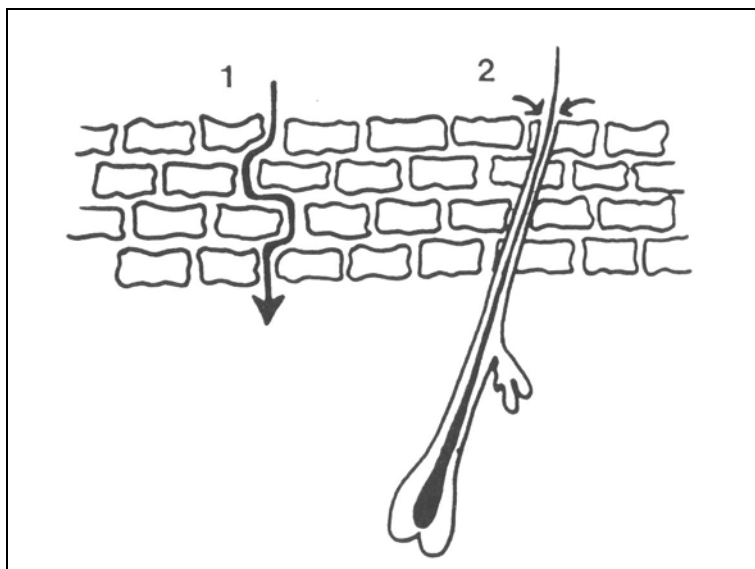


Abbildung 2.9: Mögliche Penetrationswege der Mikropartikel (1. Interzelluläre Route, 2. Transfollikuläre Route) [58]

Die Penetration von Titandioxid Mikropartikeln wird kontrovers diskutiert. Tichy [30] verneint Penetration. Lademann et al. beobachten eine Penetration von mikrofeinen Titandioxidpartikeln in die oberflächlich gelegenen Bereiche des Stratum corneums, jedoch nicht in die tiefer gelegenen Bereiche [59]. Untersuchungen von Tan et al. ergaben einen höheren Gehalt an Titandioxidpartikeln nach Auftrag einer Lichtschutzformulierung nicht nur in humaner Epidermis, sondern selbst in den Dermis Bereichen, im Vergleich zu unbehandelter Haut [60].

## **2.5. Stripping Verfahren mit Klebefilmstreifen**

Die sogenannte Stripping Methode stellt eine Methode zum schichtweisen Abtrag des Stratum corneums dar mit der Möglichkeit der Konzentrationsbestimmung der Substanzen auf den einzelnen Klebefilmstreifen. Das Stripping an der Hautoberfläche mit Klebefilmstreifen ist eine anerkannte und weit verbreitete Methode zur Untersuchung der Penetration von Substanzen in das Stratum corneum [61]. Sie findet ebenfalls Anwendung bei Penetrationsuntersuchungen an exzidierte Humanhaut [62]. Eine Bestimmung der Verteilung von topisch aufgetragenen Substanzen innerhalb des Stratum corneums ist entscheidend für die Beurteilung der Wirksamkeit und Sicherheit der aufgetragenen Substanzen.

Einige Faktoren können die Menge an Korneozyten beeinflussen, die pro Klebefilmstreifen vom Stratum corneum entfernt werden. Es sind hier zu nennen die Hydratation der Haut und natürlich der zelluläre Zusammenhalt der Zellen, welcher mit zunehmender Tiefe innerhalb des Stratum corneums zunimmt. Unterschiede treten auch auf in Abhängigkeit von der Körperregion an der ein Stripping durchgeführt wird. An der Unterarminnenseite werden bis zu 30 Strips benötigt, um den Großteil des Stratum corneums zu entfernen [63].

Zur Erstellung von Tiefenprofilen ist die Bestimmung der Menge an Korneozyten notwendig, die pro Strip von der Haut entfernt werden. Die Korrelation der penetrierten Substanzkonzentration zur gestrippten Menge an Korneozyten, anstatt zur Nummer des genommenen Strips, führt zu einer genaueren Lokalisierung der Substanz innerhalb des Stratum corneums. Die Bestimmung der gestrippten Korneozytenmenge kann über eine Differenzwägung der Strips vor und nach dem Stripping erfolgen [9]. Eine weitere Methode zur Bestimmung der pro Strip von der Haut entfernten Korneozytenmenge ist die UV-spektrometrische Analyse, welche auf

der Reflektion, Streuung und Beugung der Korneozyten beruht. Mit Bestimmung der Absorption kann auf die Menge an Korneozyten auf dem Strip geschlossen werden, mit geringeren Störungen als bei Bestimmung der Massen [59].

Durch die auf der Hautoberfläche vorhandenen Falten werden keine kompletten Zelllagen durch das Stripping entfernt. Die Zellen auf den Strips entstammen aus unterschiedlichen Schichten, wie es in Abbildung 2.10 verdeutlicht wird [64].

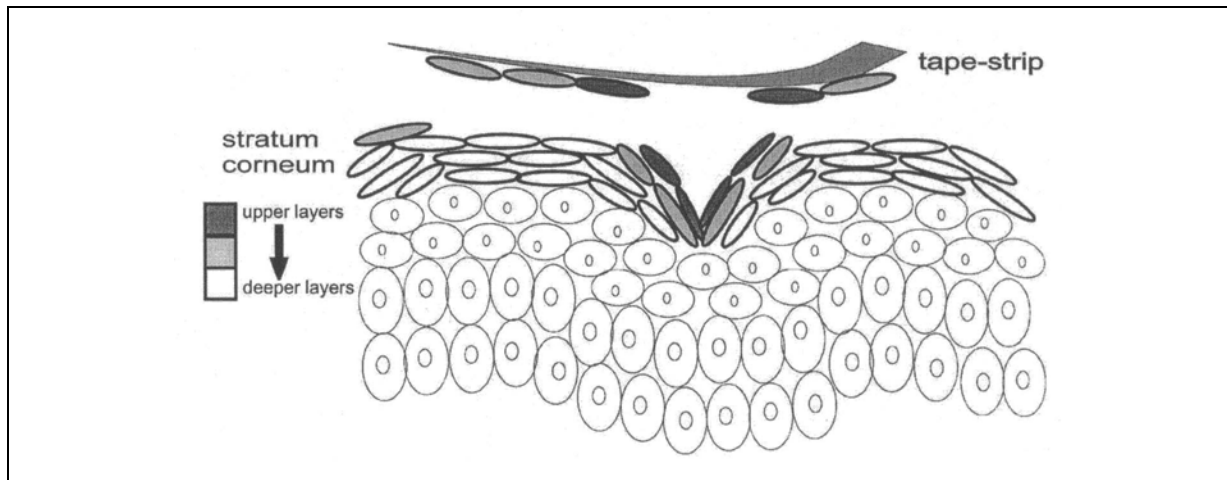


Abbildung 2.10: Entfernen von Korneozyten unterschiedlicher Zelllagen beim Stripping [64]

Auch bei später genommenen Strips ist es möglich Zellen vom Stratum corneum abzutragen, die aus oberflächlichen Zelllagen entstammen, da die vorhandenen Falten zum Teil beim Stripping nicht erfaßt werden. Diese Tatsache erschwert die Interpretation der durch das Stripping erhaltenen Ergebnisse, da Substanzen auf später genommenen Strips erfaßt werden, sich aber nur in den Falten befinden und dadurch eine Penetration vortäuschen.



### 3. Material und Methoden

#### 3.1. Material

##### 3.1.1. Titandioxid

###### 3.1.1.1. Hydrophile Titandioxid Mikropigmente

**Tiosorb UF01:** Es handelt sich um ein nanofeines Titandioxid der Firma Tioxide Specialities (Billingham, Großbritannien) mit einer vom Hersteller angegebenen Primärpartikelgröße von 18 nm. Die Oberfläche des Mikropigments hat eine Nachbehandlung mit Siliciumdioxid und Aluminiumoxid erfahren. Der vom Hersteller angegebene Titandioxidgehalt des Produkts ist mit 47% ausgewiesen [65].

###### 3.1.1.2. Amphiphile Titandioxid Mikropigmente

**Eusolex® T-2000:** Dieses amphiphile mikrofeine Titandioxid der Firma Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland) weist einen Titandioxidgehalt von 80% auf. Die amphiphilen Eigenschaften sind auf die Oberflächenbehandlung mit Aluminiumoxid und Simethicon zurückzuführen. Die Primärpartikelgröße ist mit < 20 nm angegeben. Der isoelektrische Punkt von Eusolex® T-2000 liegt bei pH 8,5, was bei Formulierungen mit pH < 8 zu einer positiven Ladung der Titandioxidpartikel führt und mit der damit verbundenen Abstoßung der Partikel untereinander zu einer verminderten Agglomerationsneigung [66].

**Eusolex® T-Eco:** Bei diesem nanofeinen Titandioxid handelt es sich ebenfalls um ein Produkt der Firma Merck (Darmstadt, Deutschland) mit vergleichbaren Spezifikationen wie das bereits oben erwähnte Eusolex® T-2000. Es weist einen Titandioxidgehalt von 80 % und eine Primärpartikelgröße < 20 nm auf. Die Oberfläche wurde ebenfalls mit Aluminiumoxid und Simethicon behandelt. Eusolex® T-Eco erfuhr nach Herstellerangaben eine spezielle physikalische Behandlung, aus der eine hohe Schüttdichte resultieren soll. Die ebenfalls erwähnte verringerte Staubentwicklung führt damit zu einer besseren Verarbeitungsmöglichkeit des Produkts [67].

### 3.1.1.3. Hydrophile Titandioxid Mikropigmentvordispersionen

**Tioveil AQ-N:** Bei dem genannten Produkt handelt es sich um eine wässrige Mikropigmentvordispersion der Firma Tioxide Specialities (Billingham, Großbritannien). Das bereits oben erwähnte Titandioxid Mikropigment Tiosorb UF0 1 ist in einer Konzentration von ca. 40% in der Formulierung enthalten, der Wasseranteil ist mit einem Wert von 54-58% angegeben. Eine Stabilisierung der enthaltenen Mikropartikel wird durch den Zusatz von 1-2% des Dispergierhilfsmittels Natriumpolyacrylat gewährleistet. Die Konservierung der Vordispersion erfolgt durch das Konservierungsmittel Nipagin M, welches in einer Konzentration von 0,4% vorhanden ist [68].

**Tioveil AQ-G und Tioveil AQ-P:** Tioveil AQ-G bzw. AQ-P unterscheiden sich zur Vordispersion Tioveil AQ-N nur im verwendeten Konservierungsmittel. Tioveil AQ-G wird durch einen Zusatz von 0,5% Germaben® II und Tioveil AQ-P durch den Zusatz von 10% Propylenglykol konserviert, die sonstige Zusammensetzung entspricht den Angaben für Tioveil AQ-N, wobei die unterschiedlichen Konzentrationen der enthaltenen Konservierungsmittel durch die Variation des Wasseranteils ausgeglichen werden [68].

Alle genannten Mikropigmentvordispersionen wurden vor der Anwendung mit einem Ultra-Turrax (IKA-Werk, Staufen, Deutschland) redispergiert.

### 3.1.2. Bestandteile der Formulierungen

**Synperonic® PE/F68:** Bei dem verwendeten Synperonic® (Uniqema, Everberg, Belgien) handelt es sich um ein nichtionogenes Blockpolymer vom Typ Poly(Ethylenoxid)-Poly(Propylenoxid)-Poly(Ethylenoxid), welches auch unter der CTFA-Bezeichnung (Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association) Poloxamer 188 bekannt ist. Poloxamer 188 mit einem mittleren Molekulargewicht von 8400 Da besitzt einen HLB Wert von 24 und findet aufgrund seines geringen irritativen Potentials häufig Anwendung in kosmetischen Produkten [69, 70, 71].

**Cetiol® HE:** Cetiol® HE stellt ein wasserlösliches Überfettungs- und Lösemittel dar, es handelt sich um ein Produkt der Firma Henkel (Düsseldorf, Deutschland). Die CTFA-Bezeichnung lautet PEG-7 Glyceryl cocoate.

**Phospholipon® G 90:** Bei dem verwendeten Phospholipon® G90 handelt es sich um ein hochgereinigtes Sojalecithin der Firma Nattermann Phospholipid GmbH (Düsseldorf, Deutschland) mit einem Anteil von mind. 90% Phosphatidylcholin. [72]

**Aerosil® 200:** Aerosil® 200 (Degussa AG, Frankfurt am Main, Deutschland) stellt eine kolloidale Kieselsäure mit einer spezifischen Oberfläche von 200 m<sup>2</sup>/g und einer mittleren Partikelgröße von 12 nm dar. [73]

**Metolose 90SH-100:** Hydroxypropylmethylcellulose mit einem Hydroxypropyl Gehalt von 4,0-12,0% und mit einem Anteil an Methoxylgruppen zwischen 19,0-24,0% ist ein Produkt der Firma Shin Etsu (Tokyo, Japan). Die Viskosität einer 2%igen wässrigen Lösung beträgt 100 mPas.

### 3.1.3. Weitere verwendete Materialien

**Schwefelsäure:** (Merck, Darmstadt, Deutschland)

**Trichloressigsäure:** (Merck, Darmstadt, Deutschland)

**Dimethylsulfoxid:** (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland)

**Ammoniumsulfat:** (Caelo, Hilden, Deutschland)

**Propylenglykol** (BASF, Ludwigshafen, Deutschland)

Weitere Materialien, die nur bei den angewendeten Methoden eingesetzt wurden, finden im entsprechenden Methodenteil Berücksichtigung.

### 3.1.4. Wasser

Wasser wurde in bidestillierter Qualität verwendet.

## **3.2. Methoden**

### **3.2.1. Vorgehensweise bei den humanen in-vivo**

#### **Penetrationsuntersuchungen**

##### **3.2.1.1. Stripping-Verfahren mit Klebefilmstreifen**

Die titandioxidhaltigen und titandioxidfreien Formulierungen wurden in einer Konzentration von  $2 \text{ mg/cm}^2$ , entsprechend den Vorschriften der COLIPA zur Bestimmung des Lichtschutzfaktors, auf die Unterarminnenseite eines männlichen Probanden aufgetragen. Nach einer determinierten Einwirkzeit wurde die überschüssige Formulierung mit einem trockenen Tuch entfernt. Bei den Untersuchungen wurde eine Einwirkzeit von 45 min gewählt, entsprechend den Anwendungsempfehlungen der Hersteller von Lichtschutzformulierungen. Einige ausgewählte Untersuchungen wurden mit einer verlängerten Einwirkzeit von 24 h durchgeführt. 10 bzw. 20 Strips (Scotch Transparent Tape, 3M, Cergy-Pontoise Cedex, Frankreich) wurden von den vorbehandelten Hautstellen genommen und die Menge an Korneozyten, mit Hilfe der UV-Spektroskopie oder dem Invertoskop, ermittelt. Nach Aufarbeitung wurden die titandioxidhaltigen Strips, zur Messung des Titangehaltes, einer Messung am Atomabsorptionsspektrometer zugeführt. Zwischen den Stripping Untersuchungen auf der Unterarminnenseite wurde eine Ruhephase von mindestens 28 Tagen beachtet, die benötigt wird zur Regeneration des Stratum corneums [21].

##### **3.2.1.2. Skin surface biopsy technique (SSB)**

Eine Alternative zum Stripping mit einem Klebestreifen bietet die Entfernung von dünnen Schichten des Stratum corneums mit Cyanoacrylat-Klebstoffen, die sogenannte Skin surface biopsy technique. Es werden Methyl-, Ethyl-, und Octylcyanoacrylate verwendet, die bei leichtem Druck und Feuchtigkeit schnell polymerisieren [74]. Im vorliegenden Fall erfolgte die SSB mit dem topischen Hautkleber Dermabond® (Ethicon, Norderstedt, Deutschland), der primär für den chirurgischen Wundverschluß eingesetzt wird [75]. Dermabond® enthält als Cyanoacrylat-Klebstoff 2-Octyl-Cyanoacrylat. Der Klebstoff wurde auf eine Glasplatte

aufgebracht und auf die mit einer titandioxidhaltigen Formulierung behandelten Hautstellen aufgedrückt. Nach einer Wartezeit von 3 min wurde die Glasplatte wieder von der Haut entfernt. Es erfolgte dann, wie im Kapitel Transmissionselektronenmikroskopie beschrieben, das Beschatten der Probe mit einer Platin-Kohle-Schicht und einer Kohleschicht bei Raumtemperatur. Das Ablösen und Reinigen der Replika erfolgte im Anschluß in Trichloressigsäure. Die erhaltenen Replika wurden am TEM betrachtet.

### 3.2.2. Spektroskopische Methoden

#### 3.2.2.1. In-vitro Bestimmung des Lichtschutzfaktors

Zur Überprüfung der Wirksamkeit der hergestellten titandioxidhaltigen Formulierungen wurde eine in-vitro Bestimmung des erzielten Lichtschutzfaktors vorgenommen. Die Messungen wurden mit dem SPF-290-Analyser der Firma Optometrics (Leeds, Großbritannien) durchgeführt. Eine Xenon Bogenlampe dient als Lichtquelle, welche den relevanten Spektralbereich von 290-400 nm abdeckt. Die zu untersuchende Formulierung wurde in einer Schichtdicke von 2 mg/cm<sup>2</sup>, entsprechend den COLIPA Vorschriften, auf ein Transpore<sup>®</sup> Tape (3M, Neuss, Deutschland) aufgebracht. Bei dem verwendeten Transpore<sup>®</sup> Tape handelt es sich um ein medizinisches Klebeband mit einer rauen Oberfläche, welches die Hautoberfläche imitieren soll. Das Tape zeigt ebenfalls eine gute Lichtdurchlässigkeit, wodurch es zu einem geeignetem Trägermaterial für die zu untersuchende Formulierung wird [76]. Nach dem Auftrag der Formulierung wird das Tape in den Strahlengang des SPF Analysers eingebracht und das UV-Spektrum von 290-400 nm wird in Schritten von 5 nm durchfahren. Die Detektion erfolgt auf der photosensitiven Oberfläche des Photomultipliers, wo ein der Strahlungsintensität proportionales Signal erzeugt wird. Ein monochromatic protection factor (MPF) wird für jede untersuchte Wellenlänge ermittelt und ausgehend von den einzelnen MPF Werten wird nach der von Diffey und Robson aufgestellten Gleichung (Abb. 3.1) der Lichtschutzfaktor (SPF) ermittelt [77, 78].

$$SPF = \frac{O_{290}^{400} \frac{E_{\lambda}}{B_{\lambda}}}{O_{290}^{400} \frac{E_{\lambda}}{MPF_{\lambda} B_{\lambda}}}$$

Abbildung 3.1

$E_{\zeta}$  stellt die Bestrahlungsstärke des Sonnenlichts bei definierten Bedingungen dar (Bestrahlungsstärke um 12 Uhr in der Hochsommerzeit in 40° nördlicher Breite, bei einem Sonneneinstrahlungswinkel von 20° und einer Dicke der Ozonschicht von 0,0305 cm) [77].  $B_{\zeta}$  beschreibt die erythemale Wirkung des Lichts verschiedener Wellenlängen, da das UV-Licht, welches die Sonne aussendet, nicht bei allen Wellenlängen gleich wirksam ist, um ein Erythem der Haut hervorzurufen [76]. Das Maximum der Erythemwirksamkeit der UV-B Strahlen liegt bei einer Wellenlänge von 297 nm [79]. Ein Austausch der in-vivo Methode zu Gunsten einer in-vitro Methode ist zu befürworten, um Testbestrahlungen der Haut mit Reaktionen über die Erythemschwelle hinaus zu vermeiden. Eine Abweichung der in-vitro Werte zu höheren Lichtschutzfaktoren im Vergleich zu den nach der in-vivo Methode erhaltenen Werte ist mit einem verstärkten Spreiten der Formulierung auf der Haut zu erklären oder einer erhöhten Penetration der Filtersubstanzen in die Haut [80]. Eine in-vitro-in-vivo Korrelation für die Lichtschutzfaktoren ist nur bei Anwendung von chemischen Filtern in ausreichendem Maße festzustellen, bei Anwendung von mineralischen Pigmenten ist die Korrelation nur unzureichend [76]. Eine Ursache hierfür liegt möglicherweise in der Tendenz der Mikropartikel zur Agglomeration auf dem Transpore<sup>®</sup> tape [76]. In vitro Messungen haben in erster Linie indikativen Charakter bezüglich der photoprotektiven Wirkung des Produktes auf der Haut [81].

### **3.2.2.2. Atomabsorptionsspektrometrie (AAS)**

#### **3.2.2.2.1. Probenaufbereitung**

Die Bestimmung der Titandioxidmenge, welche durch die einzelnen Strips von der Haut entfernt wurde, erfolgte mit Hilfe der Atomabsorptionsspektrometrie. Die Strips wurden in heißer konzentrierter Schwefelsäure unter Zusatz von Ammoniumsulfat gelöst [82]. Ammoniumsulfat ist verantwortlich für die Bildung von Titan-Sulfat Komplexen, wodurch die Adsorption des Titans an der inneren Oberfläche der Probengefäße verringert wird. Nach Verdünnung der Probe und Filtration durch einen Celluloseacetatfilter (Sartorius AG, Göttingen, Deutschland), mit einer Porengröße von 0,2  $\mu\text{m}$ , wurden die Proben zur Bestimmung des Titangehaltes einer Messung am Atomabsorptionsspektrometer zugeführt [83].

### 3.2.2.2.2. Geräteparameter

Die Atomabsorptionsspektrometrie verwendet die Absorption von Atomen in der Gasphase zur Bestimmung ihrer Konzentration.

Zur Bestimmung der Titanatome wurde ein Atomabsorptionsspektrometer Perkin Elmer 2380 (Perkin Elmer, Überlingen, Deutschland) mit Autosampler AS-40 und Graphitrohrföfen HGA-500, als Atomisierungseinheit, verwendet. Eine Titanhohlkathodenlampe (L.O.T.-Oriol, Darmstadt, Deutschland) diente als Strahlungsquelle.

Das Probenvolumen von 25 µl wurde durch eine Kapillare direkt in den Graphitrohrföfen injiziert. Störende Einflüsse der Matrix werden durch den Gebrauch der Graphitrohrföfentechnik zurückgedrängt. Um ein Verbrennen des Graphitrohres bei Temperaturen von 2700°C zu vermeiden wird Argon als Schutzgas verwendet, welches die äußeren Wände des Graphitrohres umspült.

Weitere Instrumentenparameter sind in Tabelle 3.1 aufgelistet.

<b>Wellenlänge</b>	364,3 nm
<b>Strom (Lampenversorgung)</b>	21 mA
<b>Spaltbreite</b>	0,2 nm
<b>Probenvolumen</b>	25 µl
<b>Berechnungsmodell</b>	Peakhöhe

Tabelle 3.1: Instrumentenparameter des eingesetzten  
Atomabsorptionsspektrometers

Weiterhin wichtig für die Titanbestimmung mit Hilfe der AAS ist ein geeignetes Temperaturprogramm für den Graphitrohrföfen. Das Programm sollte so ausgelegt sein, daß ein Sieden oder Spritzen der Probe vermieden wird. Ein derartiges Temperaturprogramm wurde von Skipor et al. entwickelt und für die vorliegende Analyse modifiziert [84]. Der Ablauf des Temperaturprogramms ist in Tabelle 3.2 dargestellt.

Temperatur [°C]	Heizrate [sec]	Haltezeit [sec]	Prozeßschritte
130	30	30	Trocknung
500	40	20	Therm. Vorbehandlung
1400	15	20	Therm. Vorbehandlung
2600	0	5	Meßwertaufnahme
2700	1	5	Ausglühen
20	1	45	Abkühlung

Tabelle 3.2: Temperaturprogramm

Der erste Schritt des Temperaturprogramms ist verantwortlich für das Trocknen der Probe und für das Verdampfen von niedrig siedenden Bestandteilen der Probe.

Im zweiten Schritt des Programms kommt es zur thermischen Vorbehandlung der Probe und weitere Bestandteile der Matrix werden entfernt. Die Dauer und die Temperatur der thermischen Vorbehandlungsphase sollten so gewählt werden, daß alle störenden Elemente aus der Probe entfernt werden, aber sich das zu untersuchende Element noch nicht verflüchtigt. Im vorliegenden Fall konnte eine sehr hohe Temperatur von 1400°C gewählt werden auf Grund der geringen Flüchtigkeit des Titans.

Es schließt sich der dritte Schritt mit der Atomisierung der Probe an bei einer Temperatur von 2600°C. Die Temperatur wird für einen Zeitraum von 5 sec gehalten, während dieses Zeitraumes ist der Gasstrom abgeschaltet, um die Aufenthaltsdauer der Titanatome im Graphitrohr zu verlängern.

Im vierten Schritt kommt es zum Ausglühen des Graphitrohres und zur Entfernung der restlichen Komponenten. Abschließend wird das Graphitrohr auf eine Temperatur von 20°C abgekühlt.

Carbidbildner wie Titan verursachen mit Bestandteilen des Graphitrohres chemische Interferenzen, welche sich in Memory Effekten zeigen. Zur Vermeidung der Carbidbildung werden Pyrokohlenstoff-beschichtete Graphitrohre verwendet [85, 86]. Eine Korrektur der Hintergrundabsorption war nicht erforderlich, da die Vermessung einer Blindprobe keine Absorption zeigte.

Die Auswertung der Meßsignale erfolgte über die Peakhöhe. Die Nachweisgrenze der beschriebenen Methode lag bei 5,8 ppb.



### **3.2.2.3. UV-VIS Spektrometer**

UV-VIS Spektren der genommenen Strips wurden mit einem Doppelstrahlphotometer UV 210 A der Firma Shimadzu (Kyoto, Japan) im Bereich von 200-800 nm aufgenommen. Die bei 253 nm ermittelte maximale Absorption, wurde zur Bestimmung der Korneozytenmenge herangezogen, die durch jeden Strip von der Haut entfernt wurde.

### **3.2.3. Mikroskopische Methoden**

#### **3.2.3.1. Invertoskop**

Eine weitere Möglichkeit zur Ermittlung der durch jeden Strip von der Haut entfernten Korneozytenmenge stellt die direkte Bestimmung der von den Korneozyten auf dem Strip bedeckten Fläche dar. Ein Invertoskop IX50 der Firma Olympus (Hamburg, Deutschland) wurde für die Erstellung der mikroskopischen Aufnahmen der Strips verwendet. Abbildung 3.2 stellt eine mikroskopische Aufnahme eines Placebostrips dar.

Die erhaltenen Digitalaufnahmen wurden mit Hilfe der analySIS<sup>®</sup> software (Soft Imaging System GmbH, Münster, Deutschland) ausgewertet, die es ermöglicht die von den Korneozytenaggregaten bedeckte Fläche auf den Strips zu ermitteln. Die ermittelten prozentualen Flächenanteile wurden zur Erstellung des Hornhautprofiles verwendet.

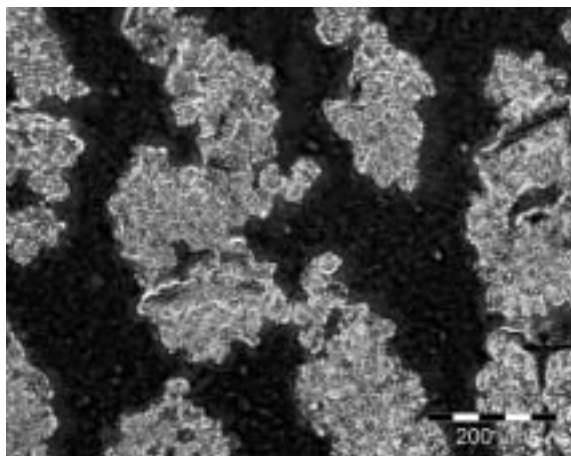


Abbildung 3.2: Placebostrip mit anhaftenden Korneozyten

### **3.2.3.2. Transmissionselektronenmikroskopie (TEM)**

Die Transmissionselektronenmikroskopie wurde zur Visualisierung der Titandioxidmikropartikel innerhalb der Formulierung und zur Lokalisierung der Mikropartikel auf den genommenen Strips verwendet. Bei der Transmissionselektronenmikroskopie handelt es sich um eine Durchstrahlelektronenmikroskopie, die einen Einblick in die Mikrostruktur von Proben ermöglicht [87]. Die von einer Glühkathode beschleunigten Elektronen passieren das Kondensorlinsensystem, welches u.a. den Strahldurchmesser variiert. Der Elektrodenstrahl passiert nun die eingebrachte Probe und geht vielfältige Wechselwirkungen mit ihr ein. Häufig treten elastische Stöße auf, bei denen die Elektronen durch Wechselwirkungen mit den Atomen im Objekt eine Richtungsänderung ohne Energieverlust erfahren. Dieser Vorgang wird als Streuung bezeichnet, wobei das elektronenmikroskopische Bild durch den Anteil der Elektronen mit einem geringen Ablenkungswinkel entsteht. Stark streuende Elektronen werden durch das Blendensystem an der Bilderzeugung gehindert.

#### **3.2.3.2.1. Gefrierbruch der halbfesten Zubereitungen**

Die Proben wurden in schmelzendem Stickstoff bei einer Temperatur von  $-210^{\circ}\text{C}$  zwischen zwei Goldträgern schockgefroren. Nach dem Einfrieren wurden sie in den Rezipienten einer Gefrierbruchanlage BAF 400 (Balzers GmbH, Wiesbaden, Deutschland) eingebracht und bei einer Temperatur von  $-100^{\circ}\text{C}$  und einem Druck von  $5 \times 10^{-6}$  bar gebrochen. Auf die innere Bruchfläche wurde eine Platin-Kohle-Schicht von 2 nm Schichtdicke in einem Winkel von  $45^{\circ}$  aufgebracht. Eine mechanische Stabilisierung der Replika erfolgte durch das Aufbringen von spektralreiner Kohle mit einer Schichtdicke von 20 nm in einem Winkel von  $90^{\circ}$ . Die Schichtdicke wurde mit einem Schwingquarz OSG 20 (Balzers GmbH, Wiesbaden, Deutschland) überprüft.

Konzentrierte Schwefelsäure wurde zur Reinigung der Replika von Probenresten verwendet. Die Replika wurden auf Kupfernetze aufgebracht und bei einer Beschleunigungsspannung von 80 kV im Strahlengang des Transmissionselektronenmikroskops EM-300 (Philips, Kassel, Deutschland) betrachtet. [58]

### **3.2.3.2.2. Negativkontrastierung**

Eine weitere Möglichkeit der Probenaufbereitung für halbfeste Zubereitungen für das Transmissionselektronenmikroskop bietet die Negativkontrastierung. Bei der Negativkontrastierung wird die Probe mit einem stark elektronenstreuenden Salz eines Schwermetalls gemischt, bei den vorliegenden Untersuchungen wurde Uranylacetat verwendet. Auf einem mit einer Formvar (Sigma-Aldrich, Seelze, Deutschland) Folie beschichtetem Kupfernetz wurde die zu untersuchende Formulierung mit der Schwermetallsalzlösung gemischt. Nach einer Trocknungsphase erfolgte die Betrachtung der Probe im Transmissionselektronenmikroskop.

### **3.2.3.2.3. Aufarbeitung der Klebefilmstreifen**

Die Klebefilmstreifen wurden von einem Stripping an der Unterarminnenseite gewonnen, nachdem die Unterarminnenseite zuvor mit einer titandioxidhaltigen mizellaren Lösung behandelt wurde. Der Klebefilmstreifen mit den anhaftenden Korneozyten wurde wie bereits oben beschrieben mit einer Platin-Kohle-Schicht von 2 nm Schichtdicke und einer spektralreinen Kohleschicht von 20 nm Schichtdicke bei Raumtemperatur beschattet. Zur Reinigung der Replika wurden diese über einen Zeitraum von 6 Tagen in Trichloressigsäure aufbewahrt. Die Betrachtung der Replika erfolgte wie im obigen Kapitel beschrieben mit dem Transmissionselektronenmikroskop EM-300.

## **3.2.4. Röntgenographische Methoden**

### **3.2.4.1. Röntgenweitwinkeldiffraktometrie (WAXD)**

Die verwendeten Titandioxidmikropartikel wurden in einen Aluminiumträger (Eigenbau des Instituts für Pharmazeutische Technologie, TU Braunschweig) eingefüllt und in einem Röntgengoniometer PW 1050/25 der Firma Philips (Kassel, Deutschland) vermessen. Der Startwinkel betrug  $2\chi = 3^\circ$  und endete bei einem Winkel von  $2\chi = 60^\circ$ , bei einer Schrittgröße von  $2\chi = 0,015^\circ$ . Röntgeninterferenzen wurden mit Hilfe eines Xenon-Proportionalitätszählrohrs PW 1711/10 (Philips,

Kassel, Deutschland) detektiert. Eine Röntgenröhre vom Typ PW 2213/20 (Ni-Filter, CuK $\zeta$ -Strahlung,  $\lambda = 0,154$  nm) (Philips, Kassel, Deutschland) wurde als Strahlungsquelle verwendet und auf einem Röntgengenerator PW 1730 (Philips, Kassel, Deutschland) montiert, der bei einer Betriebsspannung von 40 kV und einem Anodenstrom von 25 mA betrieben wurde.

### **3.2.5. Röntgenographische Methoden am Institut für Experimentelle Physik II (Universität Leipzig)**

Weitergehende Untersuchungen über die Penetration von mikrofeinen Titandioxidpartikeln erfolgten in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe Nukleare Festkörperphysik von Herrn Prof. Dr. habil. T. Butz am Institut für Experimentelle Physik II der Universität Leipzig.

Nach Auftrag der zu untersuchenden Formulierungen auf Schweinehaut erfolgte die Bestimmung der Penetration der Titandioxidpartikel mit Hilfe der orts aufgelösten Ionenstrahlanalyse an der Leipziger Ionenstrahlanalyse LIPSION.

Die auf die Probe treffenden hochenergetischen Ionen (2 – 2,25 MeV) gehen vielfältige Wechselwirkungen mit den Atomen der Probe ein. Die unterschiedlichen Wechselwirkungsprodukte werden mit verschiedenen Detektoren nachgewiesen und geben nach Auswertung vielfältige Informationen über die Beschaffenheit der Probe. Eines der verwendeten Untersuchungsverfahren wird im folgenden beschrieben.

#### **3.2.5.1. Particle induced x-ray emission (PIXE)**

Der Beschuß mit Protonen erzeugt im zu untersuchenden Material charakteristische Röntgenstrahlung. Hochenergetische Teilchen schlagen Elektronen aus den inneren Schalen, bevorzugt aus der K- oder L-Schale in Abhängigkeit vom Energieinhalt der auftreffenden Protonen. Es erfolgt dann ein Übergang von Elektronen aus energetisch höher gelegenen Schalen zu energetisch niedriger gelegenen Schalen. Die beim Schalenübergang frei werdende Energie wird in Form von Röntgenstrahlung emittiert. Die elementspezifischen Energiedifferenzen führen zu einer für das Element charakteristischen Röntgenstrahlung.

Die Detektion der durch den Ionenstrahl erzeugten Röntgenstrahlen erfolgte mit einem HPGe IGLET-X Detektor (EG&G Ortec, Oak Ridge, USA).

Eine Auswertung der durch die PIXE-Untersuchung erhaltenen Daten erfolgte mit dem Programm GeoPIXE II, welches es ermöglicht eine elementspezifische Konzentrationsdarstellung über den betrachteten Probenbereich darzustellen [88].

Für die PIXE-Auswertung zusätzlich erforderliche Daten wurden durch RBS- und STIM-Messungen gewonnen. Eine detaillierte Beschreibung der beiden genannten Methoden RBS (Rutherford Backscattering Spectrometry) und STIM (Scanning Transmission Ion Microscopy) ist in der Diplomarbeit von Herrn Frank Menzel „Ionenstrahlanalytische Untersuchung der perkutanen Aufnahme von ultrafeinen Partikeln“ zu finden [88].

### **3.2.5.2. Probenaufbereitung für die PIXE Messungen**

Zu definierten Zeitpunkten vor der Probenentnahme wurde die Formulierung auf die entsprechend vorbereiteten Hautstellen aufgetragen, so daß auch ein zeitabhängiger Verlauf der Penetration beobachtet werden konnte.

Nach Tötung der Tiere wurden, von den mit den Formulierungen behandelten Hautbereichen, mit Hilfe eines Stanzzylinders Proben entnommen.

Von den gefrorenen Proben wurden mit Hilfe eines Kryomikrotoms Hautquerschnitte mit einer Dicke von 30 µm angefertigt. Die erhaltenen Proben wurden dann der Messung an der Ionenstrahlsonde LIPSION zugeführt. Eine detaillierte Beschreibung der Probenpräparation ist in der Diplomarbeit von Frank Menzel „Ionenstrahlanalytische Untersuchung der perkutanen Aufnahme von ultrafeinen Partikeln“ zu finden [88].

Die nach Auftreten der hochenergetischen Ionen entstandenen Wechselwirkungsprodukte können mit unterschiedlichen Untersuchungsverfahren, die bereits oben dargestellt wurden, detektiert werden und geben Aufschluß über die Beschaffenheit der Probe.

### **3.2.6. Herstellung der titandioxidhaltigen Zubereitungen**

#### **3.2.6.1. Herstellung der Liposomenzubereitung**

Die Herstellung der liposomalen Zubereitungen erfolgte sowohl mit der titandioxidhaltigen Vordispersion Tioveil AQ N als auch mit den pulverförmigen

Titandioxidmikropartikeln. Die Zusammensetzungen der verwendeten Formulierungen sind in Tabelle 3.3 dargestellt.

<b>Bestandteile</b>	<b>Konzentration</b>
Eusolex <sup>®</sup> T2000 bzw.	5,0 %
Tioveil AQ-N	12,5 %
Phospholipon <sup>®</sup> G 90	20,0 %
Wasser	75,0 % bzw. 67,5 %

Tabelle 3.3: Zusammensetzung der liposomalen Zubereitungen

Zur Herstellung der Zubereitung mit den pulverförmigen Titandioxidmikropartikeln wurden diese vor der Anwendung in Wasser mit Hilfe eines Ultraschallbades Sonorex (Bandelin electronic GmbH & Co. KG, Berlin, Deutschland) dispergiert. Im Anschluß wurde Phospholipon<sup>®</sup> G 90 unter Rühren auf einem Magnetrührer (IKA-Werk, Staufen, Deutschland) bei einer Temperatur von 60°C zugesetzt. Nach dem vollständigen Lösen von Phospholipon<sup>®</sup> G 90 wurde unter kontinuierlichem Einsatz des Magnetrührers die Formulierung auf Raumtemperatur abgekühlt. Bei Verwendung der Tioveil Vordispersion entfiel die vorgeschaltete Dispergierung der Titandioxid Mikropartikel mit Hilfe des Ultraschallbades. Bei allen hergestellten Formulierungen lag der resultierende Titandioxidgehalt bei einem Wert von 5%.

### **3.2.6.2. Herstellung von Titandioxid-Dispersionen auf Basis einer mizellaren Lösung**

Tabelle 3.4 zeigt die prozentuale Zusammensetzung einer Titandioxid-Dispersion auf Basis einer mizellaren Lösung, welche im folgenden als mizellare Formulierung bezeichnet wird.

<b>Bestandteile</b>	<b>Konzentration</b>
Tioveil AQ-N	12,5 %
Synperonic® PE/F68	10,0 %
Cetiol® HE	20,0 %
Propylenglykol	8,0 %
Wasser	49,5 %

Tabelle 3.4: Zusammensetzung der mizellaren Formulierung

Tioveil AQ-N, Propylenglykol und Wasser wurden auf einem Wasserbad auf eine Temperatur von 60°C erwärmt. Getrennt von diesen Rezepturbestandteilen wurden ebenfalls Synperonic® PE/F68 und Cetiol® HE auf 60°C erhitzt. Im Anschluß wurden beide Ansätze mit Hilfe des Ultra-Turrax (IKA-Werk, Staufen, Deutschland) miteinander vermischt.

### **3.2.6.3. Herstellung der stabilisierten mizellaren Formulierungen**

Die Herstellung von stabilisierten mizellaren Formulierungen soll die Agglomerations- und im besonderen die Sedimentationsneigung der verwendeten Titandioxidmikropartikel vermindern. Gelbildner sollen durch eine Viskositätserhöhung diese Aufgabe erfüllen. Verwendet wurden Metolose 90SH-100, welches in einer Konzentration von 1 %, 2 % und 3 % in die mizellare Formulierung eingearbeitet wurde und Aerosil® 200, welches in Konzentrationen von 1 %, 2% und 4 % verwendet wurde.

Die Bereitung der Metolose 90SH-100 enthaltenden mizellaren Lösung erfolgte durch den Austausch des Wassers durch entsprechende Anteile einer 6%igen Metolose 90SH-100 enthaltenden Stammlösung.

### **3.2.6.4. Lagerbedingungen der stabilisierten mizellaren Formulierungen**

Die Überprüfung der Sedimentationsbehinderung durch die Zugabe der Gelbildner erfolgte durch eine rheologische Überprüfung von Lagerproben der hergestellten

Formulierung. Gelagert wurden die Proben bei einer konstanten Temperatur von 20°C und bei Temperaturschaukelung von -5°C bis +40°C in einem programmierbaren Kühl-Brutschrank Typ 3401 der Firma RUMED Rubarth Apparate GmbH (Laatzen, Deutschland). Der Temperaturwechsel von -5°C bis +40°C bei der Temperaturschaukelung erfolgte 4 mal täglich. Nach dem Erreichen der gewünschten Temperatur wurde diese für einen Zeitraum von 5 Stunden beibehalten. Der Temperaturwechsel erfolgte über einen Zeitraum von einer Stunde, bis die erreichte Temperatur wieder für einen Zeitraum von fünf Stunden gehalten wurde.

### **3.2.7. Rheologie**

Rheologische Untersuchungen zur Überprüfung der Sedimentation der Titandioxid Mikropartikel innerhalb der Formulierung wurden am Rheometer CVO/CS der Firma Bohlin Instruments (Mühlacker, Deutschland) durchgeführt. Eine Kegel-Platte-Einrichtung (CP 4/40) mit einem Kegelöffnungswinkel von 4° und einem Durchmesser von 40 mm wurde als Meßgeometrie verwendet.

Eine Schubspannungsrampe von 0-75 Pa wurde durchgeführt und die Meßgrößen Scherrate, Viskosität und Deformation wurden ermittelt.

Alle Messungen erfolgten isotherm bei einer Temperatur von 20°C.

### **3.2.8. Oberflächenbestimmung**

Die Bestimmung der Oberfläche der verwendeten Titandioxidmikropartikel wurde mit einem Oberflächen und Porengrößenanalysator COULTER® SA3100 (COULTER Electronics GmbH, Krefeld, Deutschland) durchgeführt. Zur Ermittlung der spezifischen Oberfläche wurde das BET-Verfahren angewendet, bei der die an einem Feststoff adsorbierte Gasmenge bestimmt wird. Die Berechnung erfolgte nach der von Brunauer, Emmett und Teller aufgestellten Gleichung [89].

Zur Entfernung von Feuchtigkeit und adsorbierten Gasen wurden die Proben vor der Probenanalyse über einen Zeitraum von 300 min bei einer Temperatur von 105°C im Vakuum entgast. Nach dem Entgasungsvorgang wurde Stickstoff als Schutzgas zugeführt.



Vor der Analyse wurde der Stickstoff aus dem Probengefäß entfernt und Helium bekannter Menge in das Probengefäß eingeleitet. Das tatsächliche Volumen des Probengefäßes wurde über den resultierenden Druck ermittelt. Während der gesamten Messung wurde das Probengefäß in flüssigem Stickstoff aufbewahrt, damit eine Kondensation des Adsorbatgases auf der Probe erfolgen konnte. Bei der Probenanalyse wurde Stickstoff als Adsorbat in bekannter Menge dem Probenbehälter mit enthaltender Probe zugegeben. Die Menge des Gases und damit der Druck im Probenbehälter wurden bei konstanter Temperatur schrittweise erhöht. Nach jeder Gaszugabe wurde der erreichte Druck im Gleichgewichtszustand aufgezeichnet und zur Berechnung des adsorbierten Gasvolumens genutzt [90].

### **3.2.9. Porenbestimmung**

Das Gesamtporenvolumen der Titandioxidmikropartikel wurde ebenfalls mit dem Oberflächen und Porengrößenanalysator COULTER® SA3100 (COULTER Electronics GmbH, Krefeld, Deutschland) ermittelt. Die Porengrößenverteilung wird entweder aus der Adsorptions- oder Desorptionsisotherme berechnet und geht auf ein Verfahren von Barrett, Joyner und Halenda zurück [91]. Bei der vorliegenden Analyse wurde das Porenvolumen bei einem vorher festgelegten relativen Druck von 0,9907 im Adsorptionsast der Isotherme bestimmt.

## 4. Versuchsergebnisse und Diskussion

### 4.1. Physikochemische Charakterisierung der Mikropigmente

Die physikochemischen Eigenschaften der Titandioxid Mikropartikel bedingen das Verhalten der Mikropigmente innerhalb der Formulierung. Eigenschaften wie Oberfläche, Dichte und Partikelgröße nehmen Einfluß auf das Aggregationsverhalten der Partikel und damit auch auf die physikalische Stabilität der Zubereitungen. Außerdem von Interesse ist die Kristallstruktur der Titandioxid Mikropartikel, da verschiedene Modifikationen vorkommen können.

#### 4.1.1. Oberflächenbestimmung

Eine Verringerung der Partikelgröße führt zu einer Zunahme der reflektierenden Flächen, welches ebenfalls zu einer Erhöhung der Effektivität der verwendeten Partikel führt. Eine Vergrößerung der reflektierenden Flächen kann sich in einer Steigerung des Lichtschutzfaktors bemerkbar machen. Makropigmente zeigen eine wesentlich geringere spezifische Oberfläche im Vergleich zu Mikropigmenten. Für ein Titandioxid Makropigment der Firma Fluka (Neu Ulm, Deutschland) mit einer Partikelgrößenverteilung von 200 bis 300 nm ist eine spezifische Oberfläche von 7-8 m<sup>2</sup>/g angegeben [13]. Die Ergebnisse der Oberflächenbestimmung für die Mikropigmente sind in der folgenden Tabelle 4.1 dargestellt.

Mikropigment	Spez. Oberfläche [m <sup>2</sup> /g]	Standardabweichung [m <sup>2</sup> /g]
Tiosorb UF01	45,58	0,14
Eusolex <sup>®</sup> T-2000	92,54	0,16
Eusolex <sup>®</sup> T-Eco	90,91	0,08

Tabelle 4.1: Spezifische Oberfläche der verwendeten Mikropigmente (n=4)

Bei den untersuchten Eusolex<sup>®</sup> Typen liegen die durch das Analysenzertifikat angegebenen Werte mit 102 m<sup>2</sup>/g für Eusolex<sup>®</sup> T-2000, bzw. 95 m<sup>2</sup>/g für Eusolex<sup>®</sup> T-Eco höher als die mit dem Oberflächen- und Porengrößenanalysator COULTER<sup>®</sup> SA3100 ermittelten Werte. Von Tioxide Specialities wird die spezifische Oberfläche von Tiosorb UF01 mit 44 m<sup>2</sup>/g angegeben, welche mit dem nach dem BET-Verfahren ermittelten Wert nahezu übereinstimmt.

Die Verringerung der Partikelgröße auf eine Primärpartikelgröße von 20 nm führt zu einer starken Vergrößerung der Oberfläche, was sich im Vergleich mit der Oberfläche des Makropigments von 7-8 m<sup>2</sup>/g zeigt. Deutlich ist der Unterschied auch zwischen Tiosorb UF01 und den untersuchten Eusolex<sup>®</sup> Qualitäten, wobei Tiosorb UF01 verglichen mit den Eusolex<sup>®</sup> Qualitäten eine nur halb so große Oberfläche aufweist. Die größere Oberfläche der Eusolex<sup>®</sup> Qualitäten sollte sich in einer stärkeren Agglomerationstendenz der Mikropartikel im Vergleich zum Tiosorb UF01 auswirken.

#### 4.1.2. Porenbestimmung

Die ebenfalls mit dem Oberflächen und Porengrößenanalysator COULTER<sup>®</sup> SA3100 ermittelten Werte für das Gesamtporenvolumen sind in Tabelle 4.2. dargestellt.

Mikropigment	Porenvolumen [ml/g]	Standardabweichung [ml/g]
Tiosorb UF01	0,15	0,01
Eusolex <sup>®</sup> T-2000	0,39	0,06
Eusolex <sup>®</sup> T-Eco	0,57	0,03

Tabelle 4.2: Porenvolumen der verwendeten Mikropigmente (n=3)

Bei der Ermittlung des Gesamtporenvolumens werden sowohl inter- als auch intrapartikuläre Zwischenräume erfaßt. Die Untersuchung der Titandioxid Mikropigmente zeigt deutliche Unterschiede im ermittelten Porenvolumen. Gründe für das unterschiedliche Porenvolumen können in einer variierenden Partikelgröße der Mikropigmente, oder in einer unterschiedlichen Oberflächenbeschichtung der Mikropigmente liegen. Durch die Oberflächenbeschichtung wird eine Minimierung der interpartikulären Wechselwirkungen angestrebt, was sich ebenfalls im Ergebnis des Gesamtporenvolumens zeigen müßte.

Der Hersteller der Eusolex<sup>®</sup> Qualitäten stellt eine unterschiedliche physikalische Behandlung der Produkte heraus, welche in einer höheren Schüttdichte für Eusolex<sup>®</sup> T-Eco resultieren soll. Die erhöhte Schüttdichte sollte sich in einem verringerten Gesamtporenvolumen widerspiegeln, was aber bei Betrachtung der Ergebnisse nicht zu erkennen ist.

#### 4.1.3. Bestimmung der wahren Dichte

Bei der Bestimmung der wahren Dichte mit Hilfe des Beckman Pyknometers wird die Dichte der reinen Substanz erfaßt. Es kommt zur Erfassung interpartikulärer Hohlräume, intrapartikuläre Hohlräume wie Kanal- und Sackporen sind ebenfalls zugänglich. Die Ergebnisse der Bestimmungen sind in Tabelle 4.3 aufgeführt.

Mikropigment	Wahre Dichte [ $\text{g/m}^3$ ]	Standardabweichung [ $\text{g/m}^3$ ]
Tiosorb UF01	3,46	0,17
Eusolex <sup>®</sup> T-2000	6,04	0,55
Eusolex <sup>®</sup> T-Eco	5,99	0,13

Tabelle 4.3: Wahre Dichte der verwendeten Mikropigmente (n=6)

Die Werte für die wahre Dichte der untersuchten Eusolex<sup>®</sup> Qualitäten zeigen keine Unterschiede, die vom Hersteller betonte unterschiedliche physikalische Behandlung der Mikropigmente hat somit keinen Einfluß auf die Dichte der Mikropartikel. Ein Titandioxid Pigment mit einer Partikelgröße von 200 nm besitzt eine Dichte von  $7,25 \text{ g/m}^3$  [13]. Die Eusolex<sup>®</sup> Qualitäten liegen trotz ihrer geringeren Partikelgröße im Bereich des pigmentären Titandioxids. Auffallend ist jedoch die im Vergleich geringe Dichte von Tiosorb UF01. Die unterschiedliche Dichte der Titandioxid Mikropigmente, trotz ihrer vergleichbaren Partikelgröße, ist mit einer unterschiedlichen Oberflächenbeschichtung der Mikropartikel zu erklären. Die unterschiedliche Oberflächenbeschichtung führt zu einer Veränderung der Kohäsionskräfte zwischen den Mikropartikeln und damit zu einer Beeinflussung der Packungsdichte der Mikropartikel.

#### 4.1.4. Bestimmung der Partikelgröße

Die Herstellerangaben über die Primärpartikelgröße der verwendeten Titandioxid Mikropartikel liegen für das Titandioxid Tiosorb UF01 bei einem Wert von 18 nm und für die Eusolex<sup>®</sup> Qualitäten bei  $<20 \text{ nm}$ . Auf eine Bestimmung der Primärpartikelgröße mit Hilfe z.B. der Laserbeugungsspektrometrie wurde verzichtet. Die transmissionselektronenmikroskopischen Aufnahmen in den folgenden Kapiteln

zeigen Abbildungen der Titandioxid Mikropartikel und ermöglichen eine direkte Bestimmung der Primärpartikelgröße.

#### 4.1.5. Röntgenweitwinkeluntersuchungen

Röntgenweitwinkeluntersuchungen mit dem Goniometer können Aufschluß geben über die vorhandene Kristallstruktur der verwendeten Titandioxid Mikropigmente. Von den natürlich vorkommenden Kristallstrukturen werden vorwiegend Rutil und Anatas eingesetzt, wohingegen Brookite nur eine geringe Bedeutung besitzt. Ein von Dussert et al. erstelltes Diffraktogramm ermöglicht eine Zuordnung der bei unterschiedlichen Winkeln  $2\theta$  aufgenommenen Interferenzen zu den erwähnten Kristallstrukturen Rutil und Anatas [92]. Das Diffraktogramm ist in Abbildung 4.1 dargestellt.

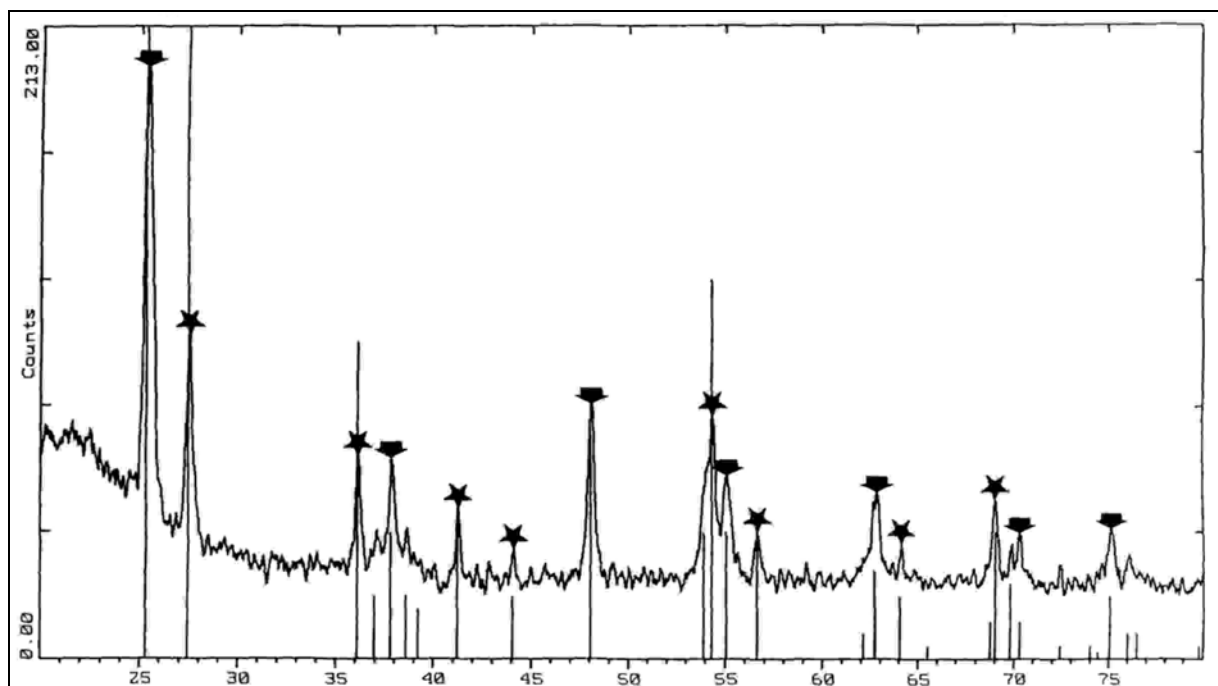


Abbildung 4.1: Diffraktogramm der Kristallstrukturen Rutil und Anatas mit Zuordnung der Interferenzen (Rutil = Stern, Anatas = Pfeil) [92]

Die röntgenographische Untersuchung der verwendeten Titandioxid Mikropartikel ermöglicht nun eine Zuordnung zu den genannten Kristallstrukturen. Exemplarisch ist in Abbildung 4.2 das Diffraktogramm für Tiosorb UF01 dargestellt, da im Vergleich zu

den von Eusolex<sup>®</sup> T-2000 und Eusolex<sup>®</sup> T-Eco aufgenommenen Diffraktogrammen keine Unterschiede erkennbar waren.

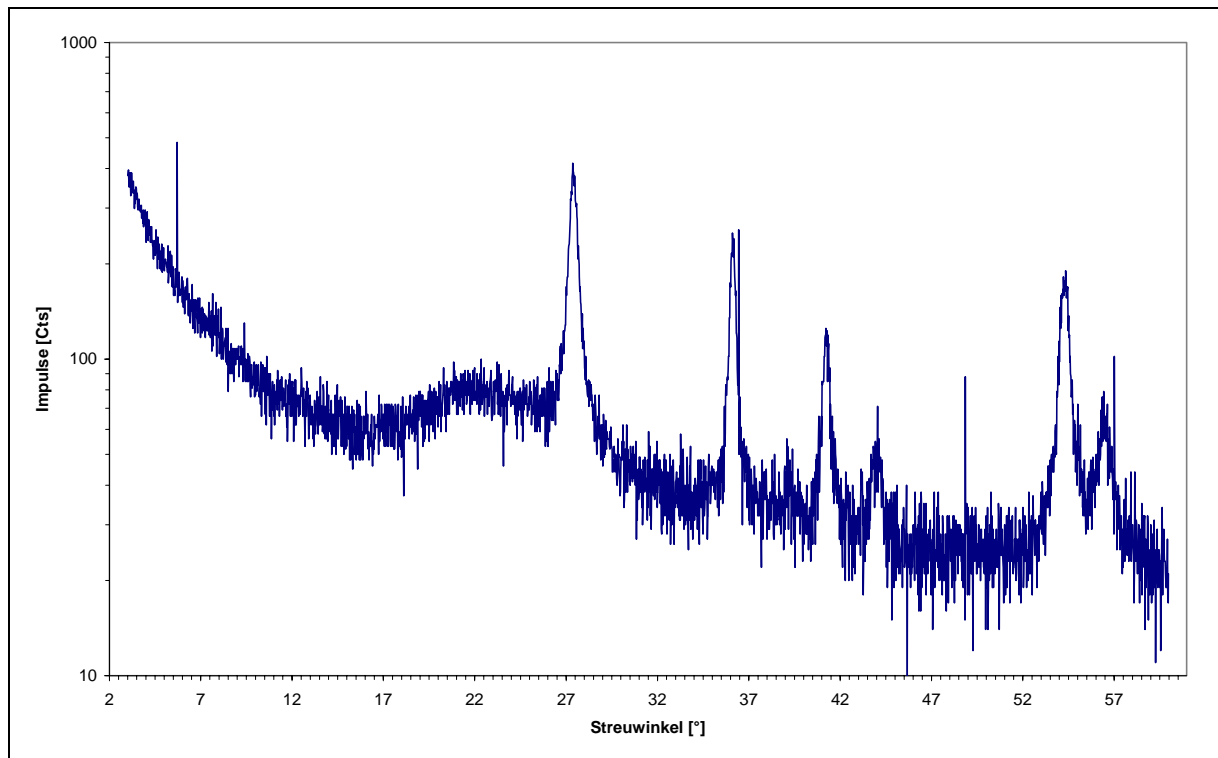


Abbildung 4.2: Diffraktogramm von Tiosorb UF01

Eine Zuordnung der Titandioxid Mikropigmente zu den verschiedenen Kristallstrukturen ist mit Hilfe des Diffraktogramms möglich. Die für die Rutil Kristallstruktur charakteristischen Interferenzen bei einem Streuwinkel von  $2\theta=27^\circ$  und  $36^\circ$  sind im Diffraktogramm für Tiosorb UF01 sowie bei den identischen Diffraktogrammen für Eusolex<sup>®</sup> T-2000 und Eusolex<sup>®</sup> T-Eco eindeutig der Rutil Kristallstruktur zuzuordnen.

#### 4.1.6. Zusammenfassende Diskussion der physikochemischen Charakterisierung der Mikropigmente

Die Verringerung der Partikelgröße der Titandioxid Pigmente und die damit verbundene Vergrößerung der reflektierenden Fläche führt zu einem veränderten optischen Verhalten der entstandenen Mikropigmente. Bei den verwendeten Titandioxid Mikropigmenten zeigen sich trotz einer vergleichbaren Primärpartikelgröße große Unterschiede in der ermittelten spezifischen Oberfläche.

Die ermittelten Oberflächen für die Mikropigmente sind im Vergleich zu den Makropigmenten mit einer Partikelgröße von 200 bis 300 nm stark vergrößert. Die vergrößerte Oberfläche wirkt sich in einer stärkeren Agglomerationsneigung der Mikropartikel aus, welche durch das Aufbringen einer speziellen Oberflächenbeschichtung und die damit verbundene Verringerung von Kohäsionskräften zwischen den Partikeln zurückgedrängt werden soll.

Die verminderten interpartikulären Wechselwirkungen zeigen sich ebenfalls in einem veränderten Porenvolumen der Mikropigmente. Die Erhöhung des Porenvolumens der Eusolex<sup>®</sup> Qualitäten im Vergleich zum Tiosorb UF01 ist im Zusammenhang mit den ebenfalls vergrößerten Oberflächen der Eusolex<sup>®</sup> Qualitäten zu sehen. Das erwartete verminderte Porenvolumen der Titandioxid Qualität Eusolex<sup>®</sup> T-Eco gegenüber Eusolex<sup>®</sup> T-2000 ist bei Betrachtung der Ergebnisse jedoch nicht zu erkennen. Nach Herstellerangaben wurde Eusolex<sup>®</sup> T-Eco einer speziellen physikalischen Behandlung unterzogen, was in einer gesteigerten Schüttdichte zum Ausdruck kommen soll, bei Betrachtung des Porenvolumens jedoch nicht zu detektieren ist.

Die unterschiedliche Oberflächenbehandlung wirkt sich ebenfalls auf die Dichte der Partikel aus, wobei jedoch trotz der unterschiedlichen physikalischen Behandlung der Eusolex<sup>®</sup> Qualitäten kein Einfluß auf deren Dichte zu erkennen ist.

Die Primärpartikelgröße der verwendeten Titandioxid Mikropartikel wurde transmissionselektronenmikroskopisch anhand der erhaltenen Aufnahmen ermittelt (s. Kapitel 4.2). Auf eine Bestimmung der Partikelgröße mit Hilfe z.B. der Laserbeugungsspektrometrie wurde verzichtet, da Agglomerate der Titandioxid Mikropartikel erfasst würden und kein Aufschluß über die Primärpartikelgröße der Titandioxid Mikropartikel gewonnen werden könnte. Bei einer Vermessung der titandioxidhaltigen liposomalen Formulierung würde durch die Anwesenheit der liposomalen Vesikel eine Bestimmung der Partikelgröße der Titandioxid Mikropartikel ebenfalls erschwert sein. Aussagen zur Effektivität der unterschiedlichen Oberflächenbeschichtungen der verwendeten Titandioxid Mikropartikel, im Bezug auf eine verringerte Agglomerationsneigung, sind jedoch auch transmissionselektronenmikroskopisch nicht zu treffen.

Die Röntgenweitwinkeluntersuchungen ermöglichen eine eindeutige Zuordnung aller verwendeten Titandioxid Mikropigmente zur Rutil Kristallstruktur, welcher auch die stärkste photoprotektive Wirkung der unterschiedlichen Kristallstrukturen

zugesprochen wird. Ein Einfluß der unterschiedlichen Oberflächenbeschichtung der Titandioxid Mikropigmente, welcher bei Betrachtung der anderen physikochemischen Daten zum Ausdruck kommt, ist bei den Ergebnissen der Röntgenweitwinkeluntersuchungen nicht zu erkennen.

## **4.2. Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen der Formulierungen**

### **4.2.1. Aufnahmen der Vordispersionen**

Bei der transmissionselektronenmikroskopischen Aufnahme, die in Abbildung 4.3 zu sehen ist, handelt es sich um eine Vordispersion, die zur Bereitung der Formulierungen verwendet wurde.

Eindeutig ist die Verteilung und Orientierung der Titandioxid Mikropartikel innerhalb der Vordispersion zu erkennen. Die nadelförmigen Kristalle vom Rutil-Typ besitzen eine längliche Ausdehnung von ca. 100 nm und eine Dicke von ca. 20 nm. Die Agglomeration der Titandioxid Mikropartikel untereinander erfolgt vorwiegend an den Seitenflächen, wie auf der Abbildung zu erkennen ist. Die Titandioxid Mikropartikel befinden sich noch auf dem Replikum, da eine vollständige Befreiung des Replikums von den Titandioxid Mikropartikeln nicht möglich war. Während der Reinigung des Replikums ist eine Bewegung der Mikropartikel möglich, welches zu einer Neuordnung der Mikropartikel auf dem Replikum führen könnte.



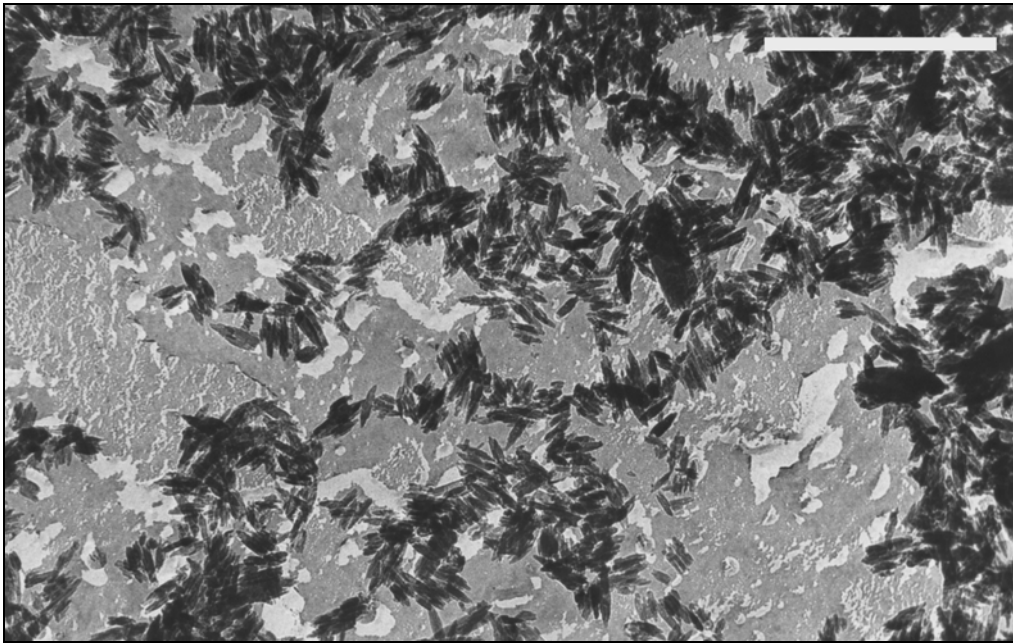


Abbildung 4.3: TEM Aufnahme der Vordispersion Tioveil AQ-G (Balken entspricht 593 nm)

#### **4.2.2. Aufnahmen des Handelsproduktes**

Die folgenden Aufnahmen zeigen die Mikrostruktur der kommerziellen Sonnenschutzformulierung Eucerin<sup>®</sup> Micropigment Creme der Firma Beiersdorf (Hamburg, Deutschland). Abbildung 4.4 zeigt die Micropigment Creme mit agglomerierten Titandioxidpartikeln im linken Bildbereich. Die Aufnahme gibt außerdem in den titandioxidfreien Bereichen den Blick frei auf die Grundstruktur der Cremeformulierung. Spezifische Charakteristika sind jedoch nicht zu erkennen.

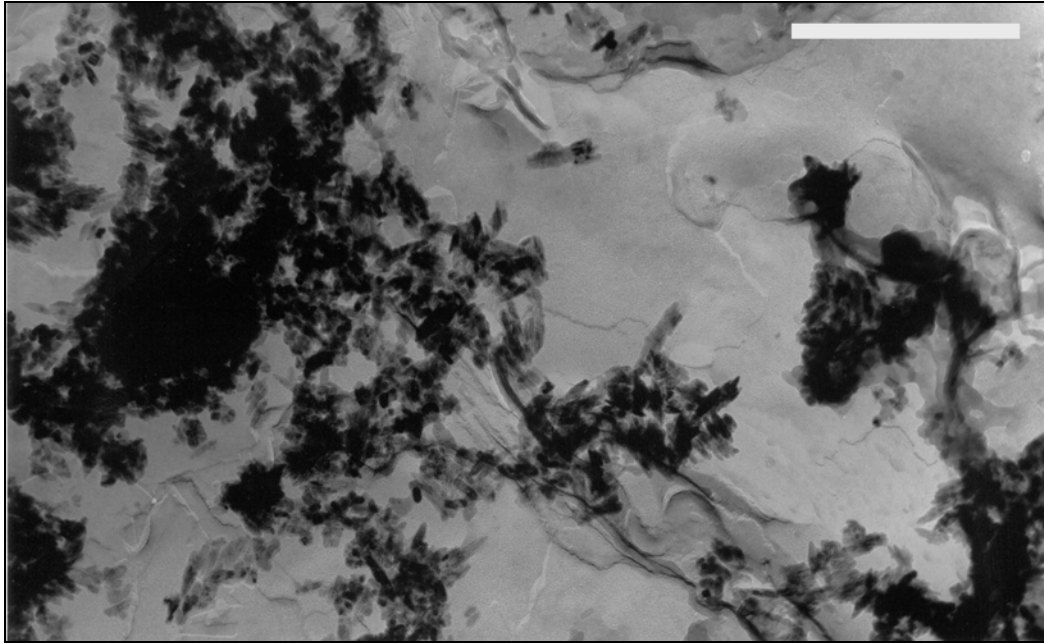


Abbildung 4.4: TEM Aufnahme der Eucerin® Micropigment Creme (Balken entspricht 593 nm)

Die folgende Abbildung 4.5 zeigt eine Detailaufnahme der Micropigment Creme, welche die Form und die vorwiegend auftretende parallele Aneinanderlagerung der nadelförmigen Titandioxid Mikropartikel verdeutlicht.

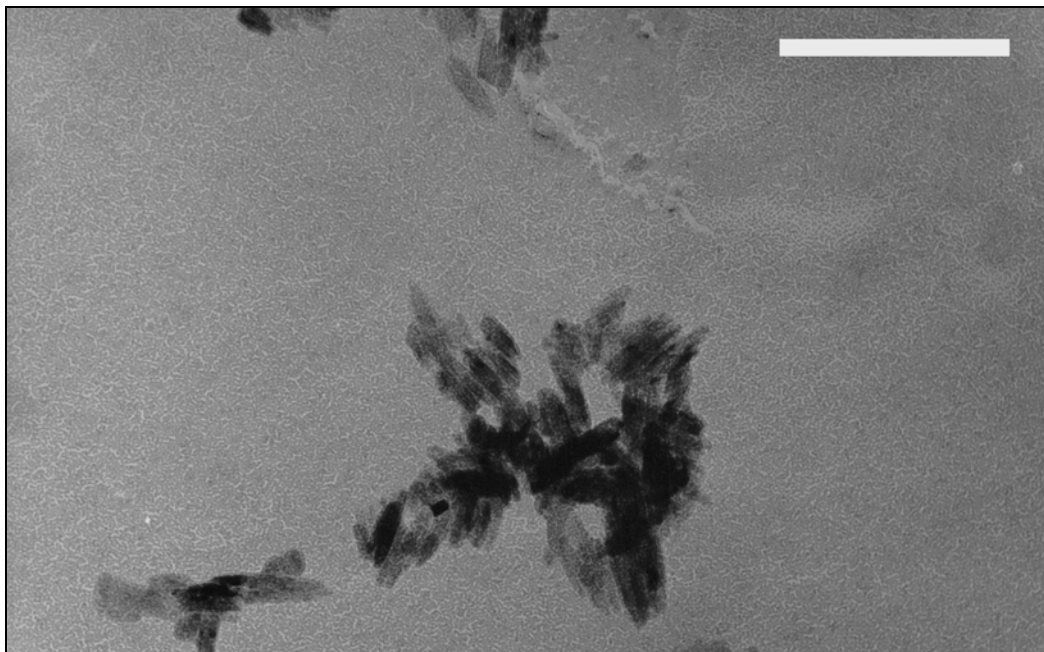


Abbildung 4.5: TEM Detail Aufnahme der Eucerin® Micropigment Creme (Balken entspricht 229 nm)

#### **4.2.3. Aufnahmen der mizellaren Formulierung**

Bei der Betrachtung der Aufnahmen der mizellaren Formulierung sind ebenfalls Agglomerate der Titandioxid Mikropartikel zu erkennen, wie sie auch bereits bei der Eucerin<sup>®</sup> Micropigment Creme zu sehen waren. Das nach Anwendung der Röntgenkleinwinkelstreuung erhaltene Streubild läßt auf die Anwesenheit von Mizellen innerhalb der Formulierung schließen. Die Bildung von Mizellen beim Einsatz von nichtionogenen Blockpolymeren vom Typ Poly(Ethylenoxid)-Poly(Propylenoxid)-Poly(Ethylenoxid) ist in der Literatur beschrieben [93], bei den transmissionselektronenmikroskopischen Aufnahmen jedoch nicht zu erkennen.

#### **4.2.4. Aufnahmen der liposomalen Formulierung**

Die transmissionselektronenmikroskopischen Aufnahmen der liposomalen Formulierung sollen Aufschluß geben über den Aufenthaltsort der Titandioxid Mikropartikel innerhalb der Formulierung.

##### **4.2.4.1. Aufnahmen nach Gefrierbruch**

Die Aufnahmen der liposomalen Formulierung (Abbildung 4.6 und 4.7) zeigen die Anwesenheit von multilamellaren Vesikeln im Größenbereich von 320 nm bis 1 µm. Innerhalb der kontinuierlichen Phase befinden sich zahlreiche Titandioxid Agglomerate, eine Entscheidung bezüglich des Anteils der in die Liposomen inkorporierten Partikel ist anhand der Aufnahmen nicht möglich. Eine Inkorporation würde zu einer verringerten Aggregation der Titandioxid Mikropartikel führen und hätte eine Stabilisierung der Partikel innerhalb der Formulierung zur Folge.

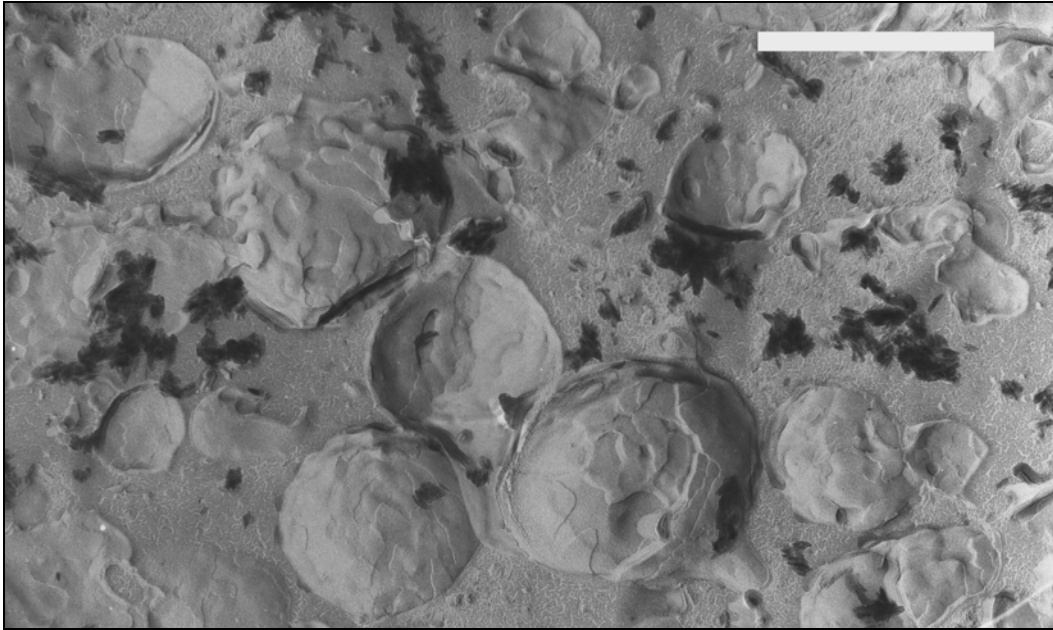


Abbildung 4.6: TEM Aufnahme der liposomalen Formulierung mit Tioveil AQ-N (Balken entspricht 800 nm)

Die Multilamellarität der Vesikel ist ausgeprägt zu erkennen in Abbildung 4.7. Die starke Agglomerations-tendenz der Partikel ist durch die Anreicherung der Partikel im unteren Bereich der Abbildung zu erkennen.

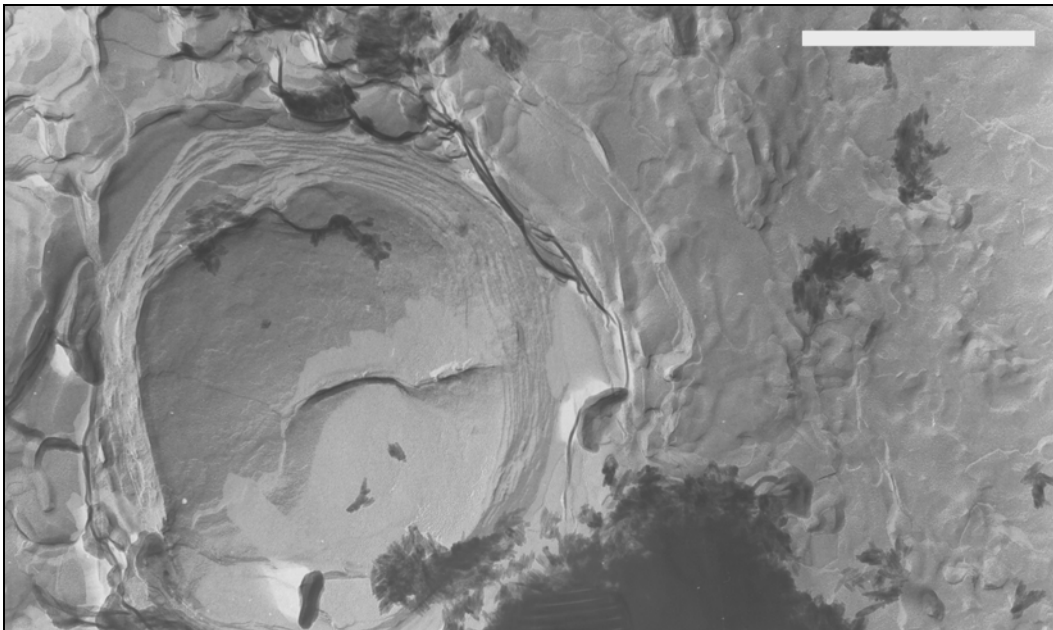


Abbildung 4.7: TEM Aufnahme der liposomalen Formulierung (Balken entspricht 800 nm)

#### 4.2.4.2. Aufnahmen nach Negativkontrastierung

Die Negativkontrastierung stellt ein weiteres Verfahren zur Probenaufbereitung für das Transmissionselektronenmikroskop dar. Das Prinzip beruht darauf, daß in Wasser lösliche Schwermetallsalze in amorpher Form um das abzubildende Objekt auf der Trägerfolie eintrocknen. Negativkontrastierte Proben können bereits wenige Minuten nach ihrer Fertigstellung im Elektronenmikroskop untersucht werden [94].

Diese Form der Probenaufbereitung ermöglicht einen genaueren Blick auf die Anzahl der vorhandenen Schichten bei den untersuchten Liposomen, dies wird auch bei Betrachtung der Abbildungen 4.8 und 4.9 deutlich. Bei den Formulierungen handelt es sich um Liposomenformulierungen ohne Zusatz von Titandioxid. Der Zusatz von Titandioxid führt, durch den ebenfalls elektronenstreuenden Effekt des Titandioxids, zu einer Überdeckung der Grundstruktur der Zubereitung.

Das Trocknen der Probe bei der Negativkontrastierung bedingt jedoch die Gefahr der artifiziellen Deformation der Objekte [94]. Diese Tatsache ist ebenfalls eindeutig zu erkennen durch das Zusammenfallen des Kernbereiches und das damit verbundene „schlauchförmige“ Aussehen der Liposomen.

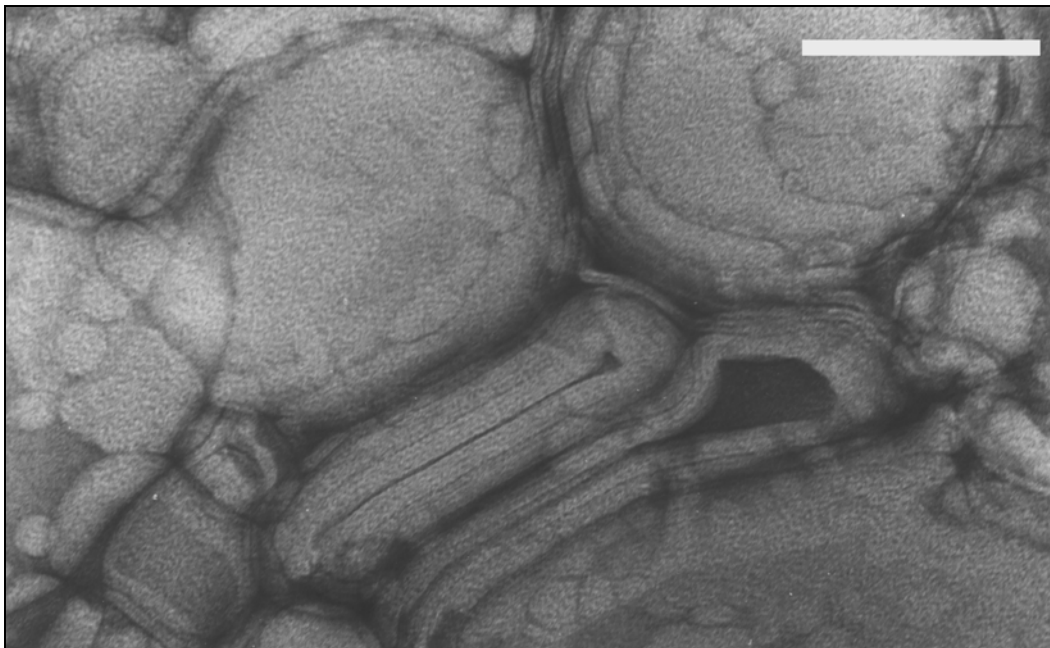


Abbildung 4.8: TEM Aufnahme der liposomalen Formulierung nach Negativkontrastierung (Balken entspricht 139 nm)

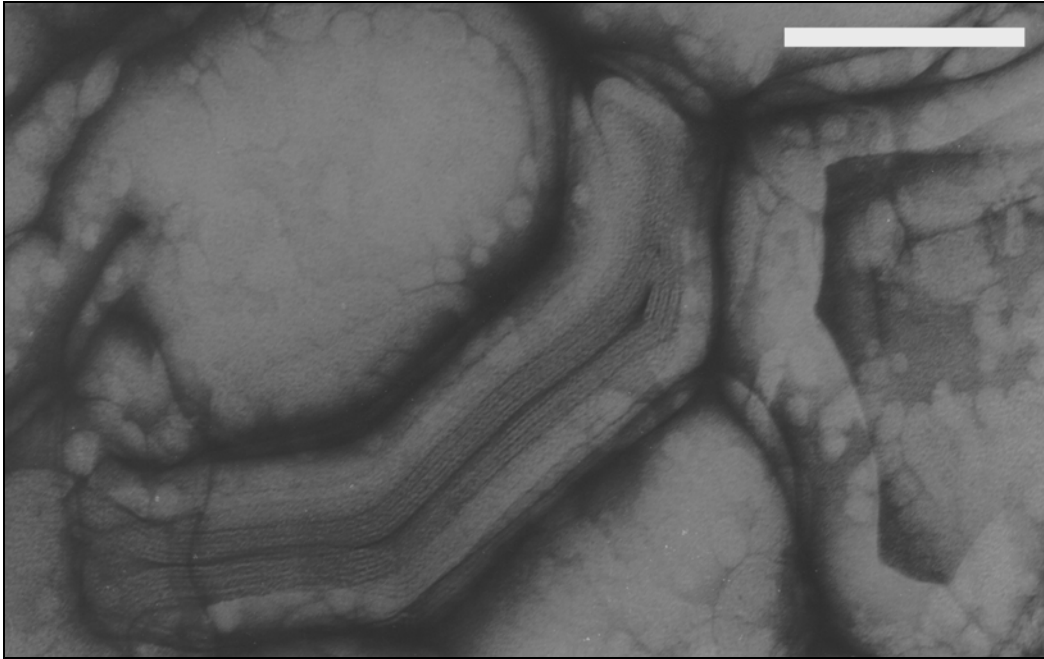


Abbildung 4.9: TEM Aufnahme der liposomalen Formulierung nach Negativkontrastierung (Balken entspricht 178 nm)

#### **4.2.5. Zusammenfassende Diskussion der transmissionselektronenmikroskopischen Aufnahmen der Formulierung**

Die Transmissionselektronenmikroskopie ermöglicht sowohl eine Visualisierung der Titandioxid Mikropartikel als auch die Erkennung der Grundstruktur der vorhandenen Formulierung. Die Betrachtung der Vordispersionen, die eine leichtere Weiterverarbeitung der Titandioxid Mikropartikel ermöglichen sollen, zeigt die Verteilung und Orientierung der Partikel innerhalb der Formulierung. Deutlich ist bei den vorhandenen Agglomeraten die bevorzugte parallele Aneinanderlagerung der Partikel zu erkennen. Bei dem untersuchten Handelsprodukt werden ebenfalls Agglomerate sichtbar, welche die photoprotektive Effektivität des Präparates vermindern und das Auftreten des Weißeffektes begünstigen.

Die Multilamellarität der im liposomalen Trägersystem vorhandenen Vesikel ist deutlich erkennbar, eine Entscheidung bezüglich des Aufenthaltsortes der Partikel, innerhalb der Vesikel oder in der kontinuierlichen Phase, ist jedoch nicht zu treffen. Die mit Hilfe der Negativkontrastierung erfolgte Probenaufbereitung zeigt deutlicher die bei den Vesikeln vorhandene Anzahl an Lamellen.

### 4.3. Ergebnisse der in-vitro Lichtschuttfaktorbestimmung

#### 4.3.1. Abhängigkeit der Lichtschuttfaktoren von der Titandioxidkonzentration

Die Abhängigkeit der Lichtschuttfaktoren von der eingearbeiteten Titandioxidkonzentration wurde unter Zuhilfenahme der verwendeten Vordispersion Tioveil AQ-N ermittelt. Eine direkte Vermessung der Vordispersion war aufgrund der hohen Titandioxidkonzentration nicht möglich. Die Vordispersion wurde mit Wasser auf die entsprechende Titandioxidkonzentration verdünnt, ein Zusatz von 1% Metolose 60SH-4000 (Shin Etsu, Tokyo, Japan) als Viskositätserhöher diente zur Verhinderung eines schnellen Absinkens der Partikel. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4.4 aufgeführt.

<b>TiO<sub>2</sub>-Konzentration</b>	<b>Lichtschuttfaktor</b>	<b>Standardabweichung</b>
0,5%	1,5	0,1
1,0%	1,7	0,1
2,0%	2,1	0,2
3,0%	2,8	0,3
4,0%	3,2	1,0
4,7%	4,0	1,4
5,0%	2,0	0,4
6,0%	1,7	0,2

Tabelle 4.4: Lichtschuttfaktoren in Abhängigkeit von der Titandioxidkonzentration (n=5)

Bei allen Konzentrationen konnte nur ein geringer Wert für den Lichtschuttfaktor erreicht werden. Auffällig ist der Abfall des Lichtschuttfaktors von Konzentration 4,7% zu 6,0%, dies ist zu erklären mit einer trocknungsbedingten Ungleichmäßigkeit der Rezeptur auf dem Transpore<sup>®</sup> Tape während der 10 minütigen Wartezeit nach dem Auftrag der Formulierung bis zur Messung. Voraussetzung für eine Lichtschuttfaktorbestimmung ist jedoch die homogene Verteilung der Formulierung auf dem Tape, da sonst bei der Bestimmung der Absorption Bereiche vermessen

werden ohne Formulierung. Nach Verringerung der Wartezeit auf 5 Minuten konnte ein Zusammenfließen der Formulierung noch nicht beobachtet werden und es erhöhte sich der Lichtschuttfaktor für eine Titandioxidkonzentration von 5% auf einen Wert von 4,2 ( $n=4$ , Standardabweichung=0,7).

#### 4.3.2. Einfluß der Hochdruckhomogenisierung auf den Wert des Lichtschuttfaktors der mizellaren Formulierung

Bei der Verarbeitung von Titandioxid Mikropartikeln treten aufgrund der großen spezifischen Oberfläche der Partikel und der Ladungsstruktur häufig Agglomerate auf, die zu einer Verringerung des Lichtschuttfaktors führen. Mit Hilfe der Hochdruckhomogenisierung sollen die Agglomerate zerstört werden und ein höherer Lichtschuttfaktor erreicht werden. Zur Überprüfung des Einflusses der Hochdruckhomogenisierung auf den Lichtschuttfaktor wurde als Modellformulierung die mizellare Lösung mit einem Titandioxidgehalt von 5% verwendet. Die Hochdruckhomogenisierung erfolgte mit dem Hochdruckhomogenisator EmulsiFlex C5 der Firma Avestin (Ottawa, Kanada), bei einem angelegten Druck von 1000 bar. Die Ergebnisse der Lichtschuttfaktorbestimmung sind unter Angabe der Anzahl der Homogenisierungszyklen in Tabelle 4.5 dargestellt.

Homogenisierungszyklen	Lichtschuttfaktor	Standardabweichung
0 Zyklen	6,4	0,9
5 Zyklen	8,7	1,2
10 Zyklen	8,1	0,5

Tabelle 4.5: Einfluß der Homogenisierungszyklen auf den Lichtschuttfaktor ( $n=3$ )

Der Einfluß der Hochdruckhomogenisierung auf den Lichtschuttfaktor ist zu erkennen, jedoch ist die Erhöhung von 5 Zyklen auf 10 Zyklen mit keiner weiteren Erhöhung des Lichtschuttfaktors verbunden. Die in der Formulierung enthaltenen weichen Agglomerate der Titandioxid Mikropartikel sind bereits nach 5 Zyklen zerstört worden und führen zur Erhöhung des Lichtschuttfaktors. Möglicherweise reichen 10 Homogenisierungszyklen nicht aus, die enthaltenen harten Agglomerate



ebenfalls zu zerstören und damit eine weitere Erhöhung des Lichtschutzfaktors herbeizuführen.

Eine weitere Bewertung des Homogenisierungsvorganges erfolgte mit Hilfe der Transmissionselektronenmikroskopie. Es wurden Gefrierbrüche der Formulierungen direkt nach dem Homogenisierungsvorgang und nach einer Lagerzeit von 72 h angefertigt. Die transmissionselektronenmikroskopischen Aufnahmen sollten Aufschluß über eine eventuelle Verringerung der Anzahl der vorhandenen Agglomerate bringen. Weitergehende Aussagen über eine Stabilisierung der Einzelpartikel sollten durch die wiederholte Beobachtung der Proben nach einer Lagerzeit von 72 h getroffen werden. Die Aufnahmen zeigen jedoch weder eine deutliche Verringerung der enthaltenen Agglomerate, noch eine Zunahme der Agglomerate während der Lagerzeit. Eine Beurteilung ist jedoch dadurch erschwert, daß immer nur exemplarisch ein sehr kleiner Bereich der Formulierung durch die Transmissionselektronenmikroskopie erfaßt werden konnte.

Im Anhang sind neben den Einzelwerten der Lichtschutzfaktorbestimmungen für die mizellare Formulierung (Tabelle 8.1.) ebenfalls die Werte für die liposomale Formulierung (Tabelle 8.2.) aufgeführt, welche einen Lichtschutzfaktor von 3,1 ( $n=3$ , Standardabweichung von 0,6) aufweist.

#### **4.3.3. Zusammenfassende Diskussion der Ergebnisse der Lichtschutzfaktorbestimmungen**

Der zu erreichende Lichtschutzfaktor ist nicht nur abhängig von der vorhandenen Lichtschutzfilterkonzentration, sondern auch von der Zusammensetzung der vorliegenden Formulierung [95]. Dies zeigt sich beim Vergleich der Ergebnisse für den Lichtschutzfaktor. Die mizellare Formulierung zeigt bei einer Titandioxidkonzentration von 5% einen Lichtschutzfaktor von 6,4 ( $n=3$ , Stdabw. 0,9), wohingegen die liposomale Formulierung nur einen Lichtschutzfaktor von 3,1 ( $n=3$ , Stdabw. 0,6) bei gleicher Titandioxidkonzentration aufweist. Die durch die Hochdruckhomogenisierung erzielte Erhöhung des Lichtschutzfaktors ist mit einer Zerteilung vorhandener weicher Agglomerate erklärbar. Transmissionselektronenmikroskopisch sind in den nach Hochdruckhomogenisation erhaltenen Formulierungen aber dennoch Agglomerate nachweisbar, die durch die Dispergiermethode nicht zerstört werden konnten.

#### **4.4. Rheologische Messungen zur Untersuchung der Lagerstabilität von titandioxidhaltigen Formulierungen**

Eine Sedimentation von Titandioxid Mikropartikeln während der Lagerung soll weitestgehend vermindert werden. Der Zusatz eines Gelbildners führt zu einer Viskositätserhöhung der Formulierung, wodurch die Tendenz der dispergierten Partikel zur Sedimentation vermindert wird. Zur Stabilisierung wurden die Gelbildner Aerosil® 200 und Hydroxypropylmethylcellulose in unterschiedlichen Konzentrationen verwendet. Zur Überprüfung der erreichten Lagerstabilität wurden rheologische Untersuchungen der verschiedenen Lagerproben durchgeführt, wobei eine separate Bestimmung der Viskosität im unteren und oberen Segment des Probengefäßes vorgenommen wurde. Eine Sedimentation der Mikropartikel sollte verbunden sein mit einer Erhöhung der Viskosität im unteren Segment des Probengefäßes.

##### **4.4.1. Lagerstabilitäten der Aerosil® stabilisierten mizellaren Formulierungen**

Zur Stabilisierung der Formulierung wurde Aerosil® 200 in einer Konzentration von 1, 2 und 4% in die mizellare Formulierung eingearbeitet, in der ebenfalls 5% Titandioxid enthalten war. Die Lagerung der Probe erfolgte sowohl bei Raumtemperatur als auch unter Streßbedingungen im Schaukelschrank. Nach definierten Zeiträumen wurden die Proben entnommen und der Messung am Rheometer zugeführt. Die letzte Lagerprobe wurde nach einem Zeitraum von 26 Tagen nach Herstellung vermessen. Der Einfluß der unterschiedlichen eingearbeiteten Konzentrationen von Aerosil® 200 auf die Viskosität der Formulierung ist in Abbildung 4.10 zu erkennen. Abbildung 4.10 zeigt die Viskosität der unterschiedlichen Formulierungen in Abhängigkeit zur angelegten Schubspannung, vermessen wurden die bei Raumtemperatur gelagerten Proben nach einer Lagerungszeit von 4 Tagen.

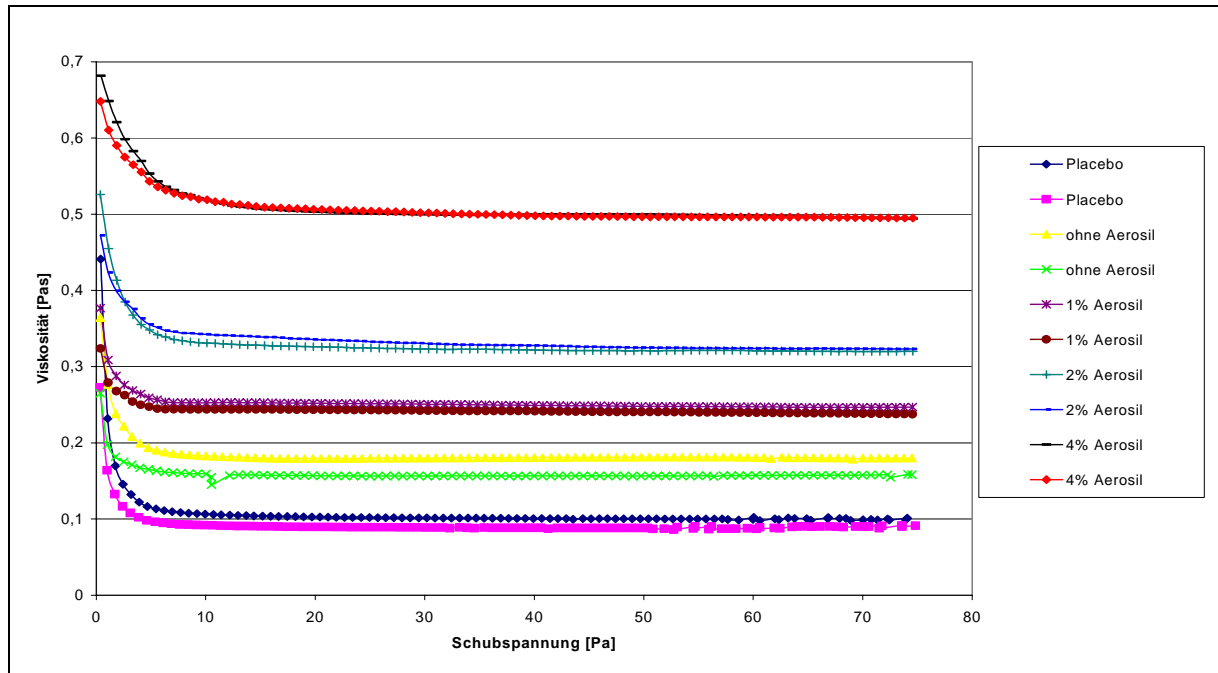


Abbildung 4.10: Vergleich der Viskosität der Aerosil® stabilisierten Zubereitungen

Der Kurvenverlauf der Viskogramme ist für alle Formulierungen ähnlich. Nach Überschreiten einer Mindestschubspannung zeigen alle Systeme ein idealviskoses Verhalten, verdeutlicht durch die konstante Viskosität bei steigender Schubspannung. Die mizellare Lösung, die keinen Zusatz an Titandioxid und Aerosil® 200 beinhaltet, zeigt die niedrigste Viskosität, sie ist in der Graphik als Placebo Formulierung deklariert. Eine Erhöhung der Viskosität wird erreicht durch die Einarbeitung von Titandioxid, im vorliegenden Fall in einer Konzentration von 5%, wie bei den Kurvenverläufen mit der Bezeichnung „ohne Aerosil“ zu erkennen. Eine weitere Erhöhung der Viskosität wird erreicht durch die Einarbeitung von Aerosil® 200 in unterschiedlichen Konzentrationen. In der Graphik sind die Kurvenverläufe für die Proben mit gleicher Titandioxidkonzentration von 5%, aber unterschiedlichen Konzentrationen an Aerosil® 200 von 1%, 2% und 4% dargestellt.

Die rheologischen Untersuchungen sollten ebenfalls Aufschluß über eine Sedimentationsbehinderung der Titandioxid Mikropartikel durch den Zusatz eines Gelbildners geben.

Zur Überprüfung der Sedimentationsbehinderung in Abhängigkeit von der Konzentration des Gelbildners wurden aus zwei verschiedenen Segmenten – oben bzw. unten jedes Probengefäßes Proben entnommen und rheologisch untersucht. Eine Sedimentation der Titandioxidpartikel sollte verbunden sein mit einer Erhöhung der Viskosität im unteren Segment des Probengefäßes. Bei einer ausreichenden

Stabilisierung der Formulierung sollten keine Viskositätsunterschiede in den untersuchten Segmenten auftreten. Abbildung 4.11 zeigt exemplarisch das Viskogramm der Lagerprobe, welche 5% Titandioxid und zusätzlich 4% Aerosil® 200 beinhaltet, nach einer Lagerzeit von 4 Tagen bei Raumtemperatur. Es sind die Kurvenverläufe für die Proben aus den unterschiedlichen Segmenten des Probengefäßes dargestellt.

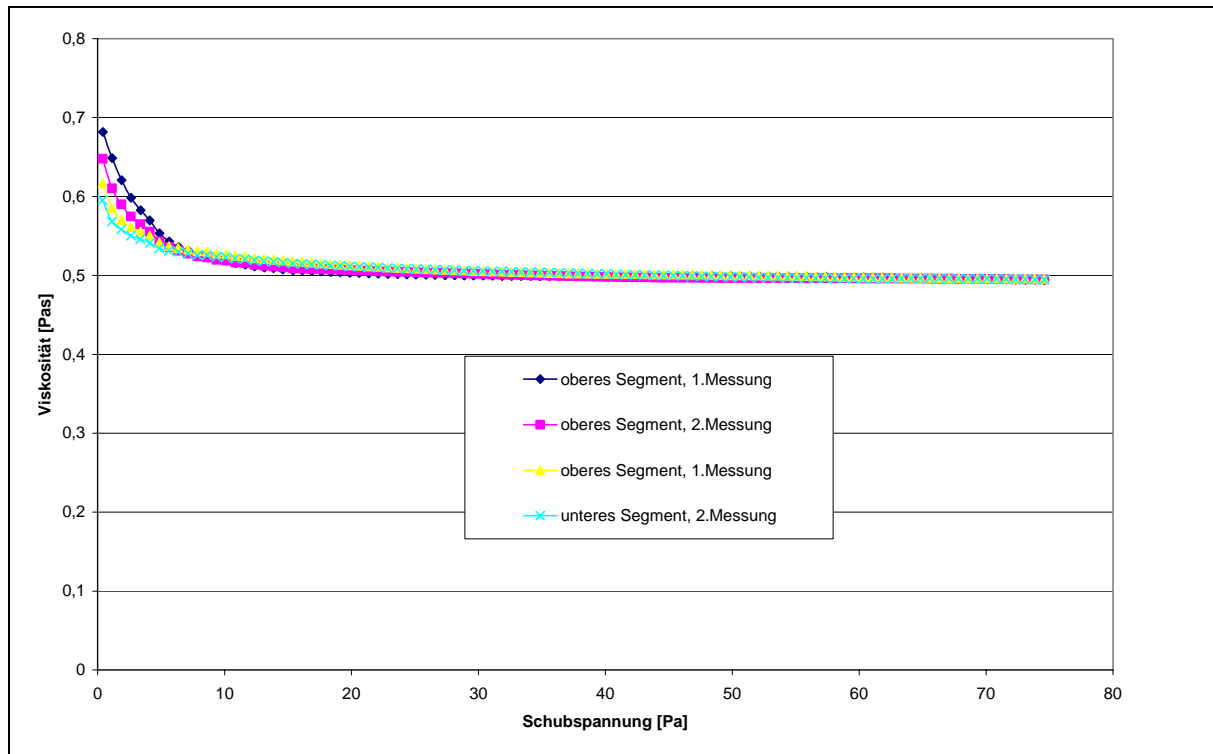


Abbildung 4.11: Vergleich der Viskosität der unterschiedlichen Segmente innerhalb einer Lagerprobe (Raumtemperatur)

Es sind keine Unterschiede im Wert der Viskosität bei der Untersuchung der unterschiedlichen Segmente zu erkennen. Diese Tatsache deutet auf eine ausreichende Stabilisierung der Titandioxid Mikropartikel über den untersuchten Zeitraum hin. Bei der weitergehenden Untersuchung der Lagerproben traten Aufspaltungen der Kurvenverläufe auf. Abbildung 4.12 zeigt beispielhaft ein solches Phänomen. Es handelt sich um eine Probe mit 5% Titandioxid und einem Zusatz von 4% Aerosil® 200, die nach 18 Tagen Lagerung im Schaukelschrank vermessen wurde.

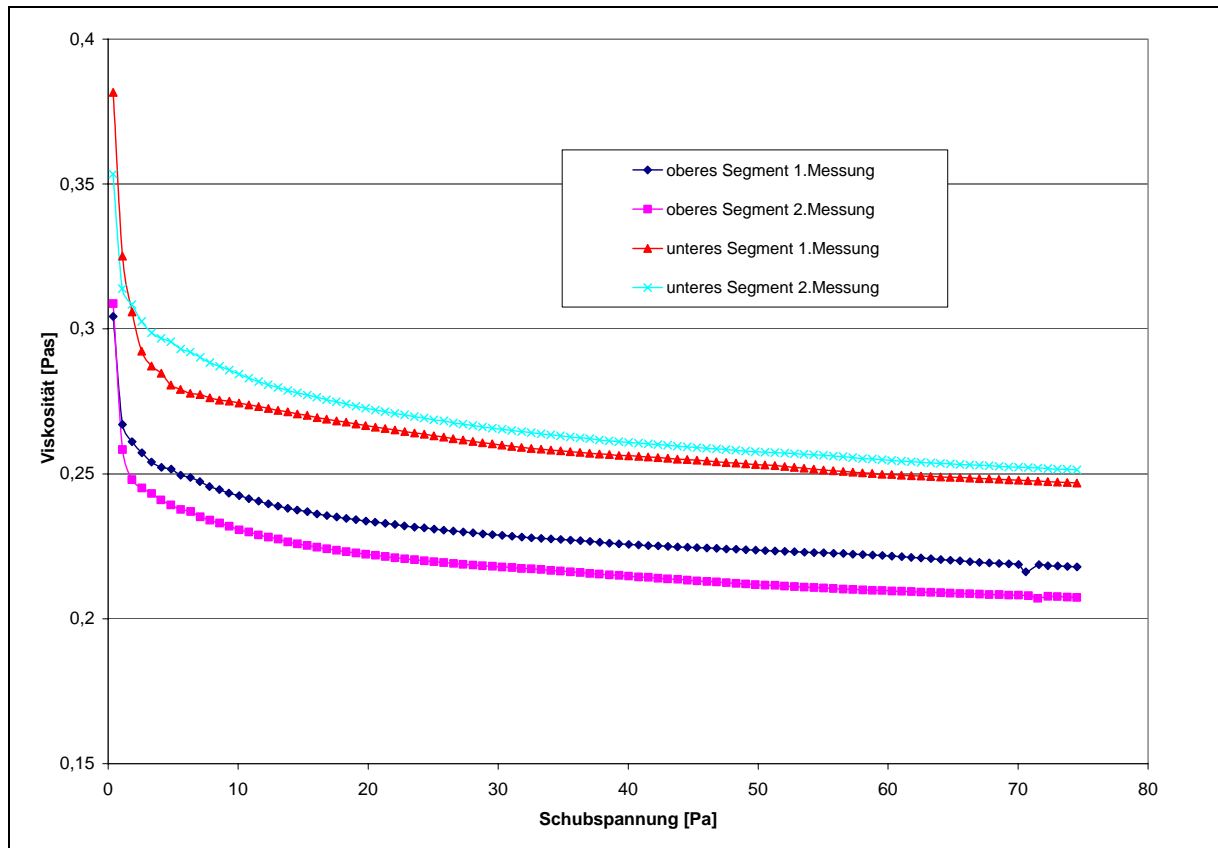


Abbildung 4.12: Vergleich der Viskosität der unterschiedlichen Segmente innerhalb einer Lagerprobe (Schaukelschrank)

Die ermittelten Viskositäten des unteren Segments liegen oberhalb der Viskositäten, welche für das obere Segment ermittelt wurden. Der Anstieg der Viskosität ist mit der Sedimentation und der damit verbundenen erhöhten Konzentration an Titandioxid Mikropartikeln im unteren Segment zu erklären.

Eine eindeutige Aussage über die für eine ausreichende Stabilisierung der Titandioxid Mikropartikel benötigte Konzentration an Aerosil® 200 ist jedoch nicht zu treffen, da nicht bei allen Lagerproben die oben dargestellten Aufspaltungen auftraten.

Im Anhang (Abschnitt 8.2.1.) sind die Einzelwerte der Viskositäten bei einer gegebenen Schubspannung von 40 Pa aufgeführt. In Abschnitt 8.2.1.1. sind die Werte für die Lagerung bei Raumtemperatur und in Abschnitt 8.2.1.2. die Werte für die Lagerung im Schaukelschrank zu finden.

#### 4.4.2. Lagerstabilitäten der HPMC stabilisierten mizellaren Formulierungen

Analog zu den oben beschriebenen Versuchen wurde in dieser Versuchsreihe Metolose 90SH-100, eine Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC), zur Stabilisierung der Titandioxid Mikropartikel innerhalb der mizellaren Lösung verwendet. Die Lagerung der Probengefäße erfolgte wiederum bei Raumtemperatur und unter Streißbedingungen im Schaukelschrank. Die Messungen der Viskosität wurden nach definierten Lagerzeiträumen am Rheometer durchgeführt. Die letzte Lagerprobe wurde nach einem Zeitraum von 28 Tagen nach Herstellung vermessen.

Die Viskogramme zeigen wie in der vorigen Meßreihe einen idealviskosen Bereich nach Überschreiten einer Mindestschubspannung. Der Einfluß des Titandioxids und der unterschiedlichen Konzentrationen an HPMC auf die Viskositäten ist in Tabelle 4.6 am Beispiel von Lagerproben nach 7-tägiger Lagerung bei Raumtemperatur dargestellt. Verglichen wurden die Viskositäten der unterschiedlichen Formulierungen bei einer angelegten Schubspannung von 40 Pa. Bei der angelegten Schubspannung von 40 Pa befindet man sich im idealviskosen Bereich der Messungen.

Konzentration von TiO <sub>2</sub> und HPMC [%]	Viskosität bei 40 Pa [Pas]
TiO <sub>2</sub> 0%, HPMC 0%	0,11
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 0%	0,18
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 1%	0,33
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 2%	0,70
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 3%	0,89

Tabelle 4.6: Viskositäten der HPMC-haltigen Titandioxid Formulierungen nach 7 Tagen Lagerung bei Raumtemperatur

Eindeutig ist der Anstieg in der Viskosität zu erkennen, bedingt durch die Einarbeitung der Titandioxid Mikropartikel und die steigende Konzentration an HPMC.

Aussagen über die für eine ausreichende Stabilisierung der Titandioxid Mikropartikel benötigte Konzentration an HPMC konnten nicht getroffen werden, da sich ähnlich

wie bei den Aerosil® Lagerproben keine einheitliche Aufspaltung der Viskositätsverläufe bei der Untersuchung der oberen und unteren Segmente der Lagerproben zeigte. Ein Einfluß der unterschiedlichen Lagerungsbedingungen der Proben bei Raumtemperatur und im Schaukelschrank auf die Stabilität der Titandioxid Mikropartikel war ebenfalls nicht zu beobachten. Die Lagerung im Schaukelschrank sollte durch die stärkere Belastung der Probe zu einer zeitlich früheren und stärkeren Aufspaltung der Viskositätsverläufe im Vergleich zu den Lagerproben bei Raumtemperatur führen.

Im Anhang (Abschnitt 8.2.2.) sind die Einzelwerte der Viskositäten bei einer gegebenen Schubspannung von 40 Pa aufgeführt. In Abschnitt 8.2.2.1. sind die Werte für die Lagerung bei Raumtemperatur und in Abschnitt 8.2.2.2. die Werte für die Lagerung im Schaukelschrank zu finden.

Eine eindeutige Beurteilung der Stabilität der Formulierungen war mit Hilfe der Rheologie nicht zu erreichen. Aus diesem Grund war es notwendig die stabilisierten Systeme auf andere Veränderungen, wie z.B. die des Lichtschutzfaktors hin zu untersuchen.

#### **4.4.2.1. Lichtschutzfaktoren der HPMC stabilisierten mizellaren Formulierungen**

Der Einfluß der HPMC Stabilisierung auf das Ergebnis der Lichtschutzfaktorbestimmung wird im folgenden erörtert. Die oben genannten Formulierungen mit einem HPMC Gehalt von 0%, 1%, 2% und 3% wurden zur Bestimmung des Lichtschutzfaktors am SPF-290-Analyser 8 Tage nach der Herstellung untersucht. Die Ergebnisse der Bestimmung sind in Tabelle 4.7 dargestellt.

Konzentration von TiO <sub>2</sub> und HPMC [%]	Lichtschuttfaktor	Standardabweichung
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 0%	7,6	1,2
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 1%	9,3	1,1
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 2%	10,4	0,7
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 3%	11,1	0,2

Tabelle 4.7: Lichtschuttfaktoren der HPMC stabilisierten mizellaren Formulierung (n=3)

Die Lichtschuttfaktoren der HPMC stabilisierten mizellaren Formulierungen nehmen bei steigender Konzentration an HPMC zu. Verantwortlich für die Erhöhung des Lichtschuttfaktors könnte die durch die HPMC Konzentration erreichte Viskositätssteigerung der Formulierung sein und die damit verbundene Aufrechterhaltung der direkt nach der Herstellung erzielten homogenen Verteilung der Titandioxid Mikropartikel. Im Anhang sind die Einzelwerte der Lichtschuttfaktorbestimmungen in Tabelle 8.3. aufgeführt.

Der Lichtschuttfaktor für die nicht durch HPMC stabilisierte Formulierung weicht von dem im Kapitel 4.3.2. ohne vorherige Hochdruckhomogenisierung gemessenen Wert ab. Der Unterschied zwischen 6,4 und 7,6 bleibt jedoch im Rahmen von statistischen Schwankungen.

Der Einfluss der HPMC Konzentration auf die Penetration der Titandioxid Mikropartikel in humanes Stratum corneum wird in einem späteren Kapitel beschrieben.

#### 4.4.2.2. Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme der HPMC stabilisierten mizellaren Formulierungen

Abbildung 4.13 zeigt eine transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme einer mit einem Zusatz von 2% HPMC stabilisierten mizellaren Formulierung. Die Formulierung hat einen Titandioxidgehalt von 5%.



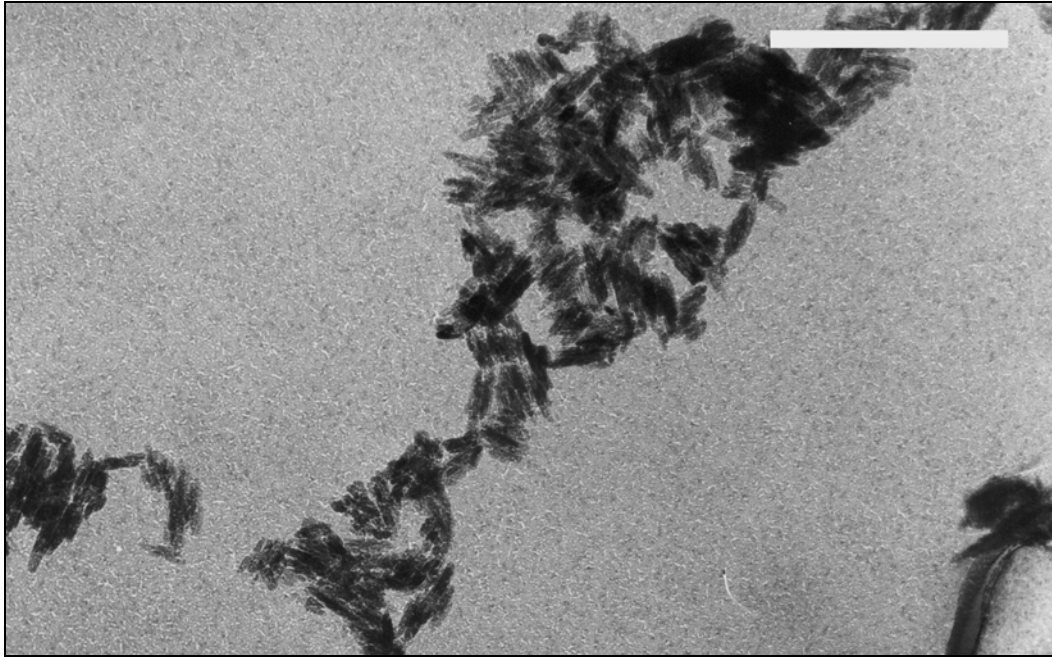


Abbildung 4.13: TEM Aufnahme der mizellaren Formulierung mit 2% HPMC und 5% TiO<sub>2</sub> (Balken entspricht 291 nm)

Erkennbar ist wiederum die größtenteils parallele Aneinanderlagerung der Titandioxid Mikropartikel, die sich in der vorliegenden Abbildung nur zu kleineren Agglomeraten zusammengelagert haben. Im Hintergrund ist die charakteristische Struktur einer mizellaren Lösung zu erkennen.

#### **4.4.3. Zusammenfassende Diskussion zur Untersuchung der Lagerstabilität der titandioxidhaltigen Formulierungen**

Die galenische Stabilisierung der titandioxidhaltigen Formulierungen soll ein Absinken der Titandioxid Mikropartikel und eine damit verbundene Verringerung der photoprotektiven Wirkung verhindern. Die rheologische Überprüfung der Formulierungen zeigte eine Erhöhung der Viskosität in Abhängigkeit von der Konzentration der eingearbeiteten Titandioxid Mikropartikel und des Gelbildners.

Im Vergleich zu einer Formulierung mit einer höheren Konzentration des Gelbildners sollte bei einer geringeren Konzentration des Gelbildners und einer damit verbundenen verringerten Viskosität der Formulierung eine verstärkte Sedimentation der Titandioxid Mikropartikel zu erkennen sein. Außerdem sollte bei der Lagerung im Schaukelschrank, bedingt durch die größere Belastung der Probe, eine

Sedimentation der Mikropartikel früher zu beobachten sein. Eine Überprüfung der Effektivität der galenischen Stabilisierung durch Viskositätsmessungen der unterschiedlichen Segmente der Lagergefäße ergab jedoch keine einheitliche Viskositätsänderung in den unterschiedlichen Segmenten. Exemplarisch dargestellte Ergebnisse können über die minimal zur Stabilisierung der Titandioxid Mikropartikel über den beobachteten Lagerzeitraum erforderliche Konzentration an Gelbildner keine Aussagen liefern. Die im Anhang aufgeführten Viskositätsdaten für eine Schubspannung von 40 Pa verdeutlichen dies. Das angewandte rheologische Verfahren ermöglicht es also nicht, eine Aussage über die Sedimentation der Titandioxid Mikropartikel zu treffen.

Hinweise auf eine verringerte Sedimentation und eine damit verbundene Aufrechterhaltung der homogenen Verteilung der Titandioxid Mikropartikel innerhalb der Formulierung geben die Lichtschuttfaktorbestimmungen. Mit Anstieg der Gelbildnerkonzentration kommt es zur Erhöhung des Lichtschuttfaktors, welches mit einer Stabilisierung der homogenen Verteilung der Partikel erklärt werden kann.

#### **4.5. Untersuchungen zur Penetration von mikrofeinem Titandioxid in Humanhaut**

##### **4.5.1. Penetrationsuntersuchungen mit dem Handelsprodukt Eucerin® Micropigment Creme**

Erste Penetrationsuntersuchungen wurden unter Verwendung des Handelsproduktes Eucerin® Micropigment Creme durchgeführt. Das Handelsprodukt weist einen deklarierten Lichtschuttfaktor von 15 auf. Eucerin® Micropigment Creme verzichtet vollständig auf den Zusatz von chemischen Lichtschutzfiltern und enthält als alleinige Lichtschutzsubstanz Titandioxid Mikropigmente.

Eucerin® Micropigment Creme wurde auf zwei Bereiche der Unterarminnenseite in einer Konzentration von  $2 \text{ mg/cm}^2$  aufgetragen. Nach einer Verweilzeit von 45 Minuten wurde die überschüssige Formulierung mit einem trockenen Tuch entfernt und es erfolgte das Stripping mit Klebefilmstreifen. Nach der bereits im Kapitel Atomabsorptionsspektrometrie beschriebenen Probenaufbereitung wurden die erhaltenen zwei Probenserien der unterschiedlichen Auftragungsbereiche jeweils zweimal an der AAS vermessen. Die Mittelwerte der entsprechenden Probenserien

nach AAS Bestimmungen sind in der folgenden Graphik (Abbildung 4.14) gegen die Nummer des Strips abgetragen.

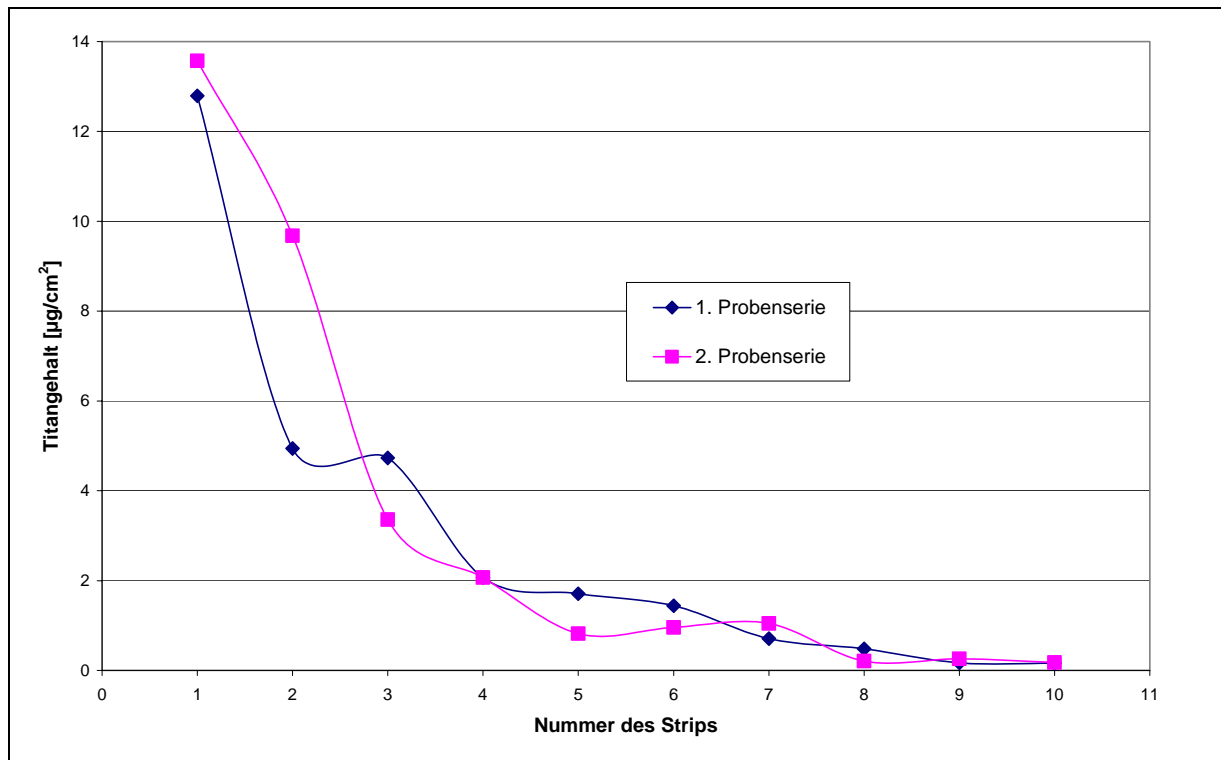


Abbildung 4.14: Penetrationsuntersuchungen mit dem Handelsprodukt Eucerin® Micropigment Creme

Die Penetrationskurve nach Auftrag der Eucerin® Micropigment Creme zeigt einen exponentiellen Verlauf der Titandioxidkonzentration in Abhängigkeit von der Nummer des Strips. Der Verlauf der Penetrationskurven ist für beide Probenserien vergleichbar. Der Endwert des Titangehaltes von ungefähr  $0,2 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  wird für beide Probenserien ab dem achten Strip erreicht.

Bei der gewählten graphischen Darstellungsweise wird der Titangehalt bezogen auf die Nummer des genommenen Strips. Für eine genauere Lokalisierung der Titandioxid Mikropartikel innerhalb des Stratum corneums ist jedoch die Bestimmung der Menge an Korneozyten wichtig, die pro Strip von der Haut abgetragen wird. Diese kann variieren in Abhängigkeit vom Hydratationszustand der Haut und dem zellulären Zusammenhalt der Korneozyten, sowie in Abhängigkeit von der aufgetragenen Formulierung. Die UV-spektrometrische Analyse der Strips erlaubt Rückschlüsse auf die durch die Strips abgetragene Menge an Korneozyten [78]. Die folgende graphische Darstellungsweise, welche von der Arbeitsgruppe Lademann

entwickelt wurde, ermöglicht es, die Ergebnisse der Titanbestimmung mit den Ergebnissen der UV-spektrometrischen Analyse zur Bestimmung der abgetragenen Korneozytenmenge zu kombinieren.

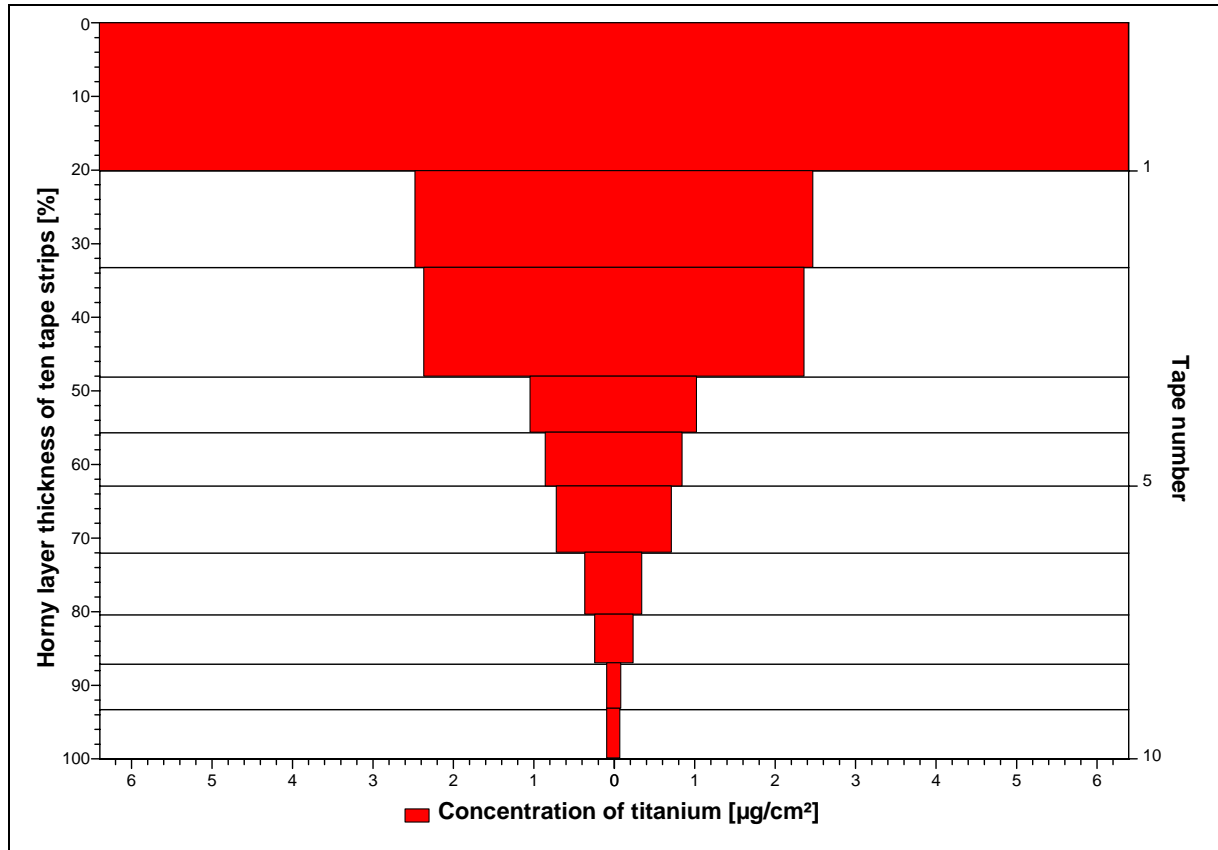


Abbildung 4.15: Penetrationsuntersuchungen mit dem Handelsprodukt Eucerin<sup>®</sup> Micropigment Creme (1. Probenserie)

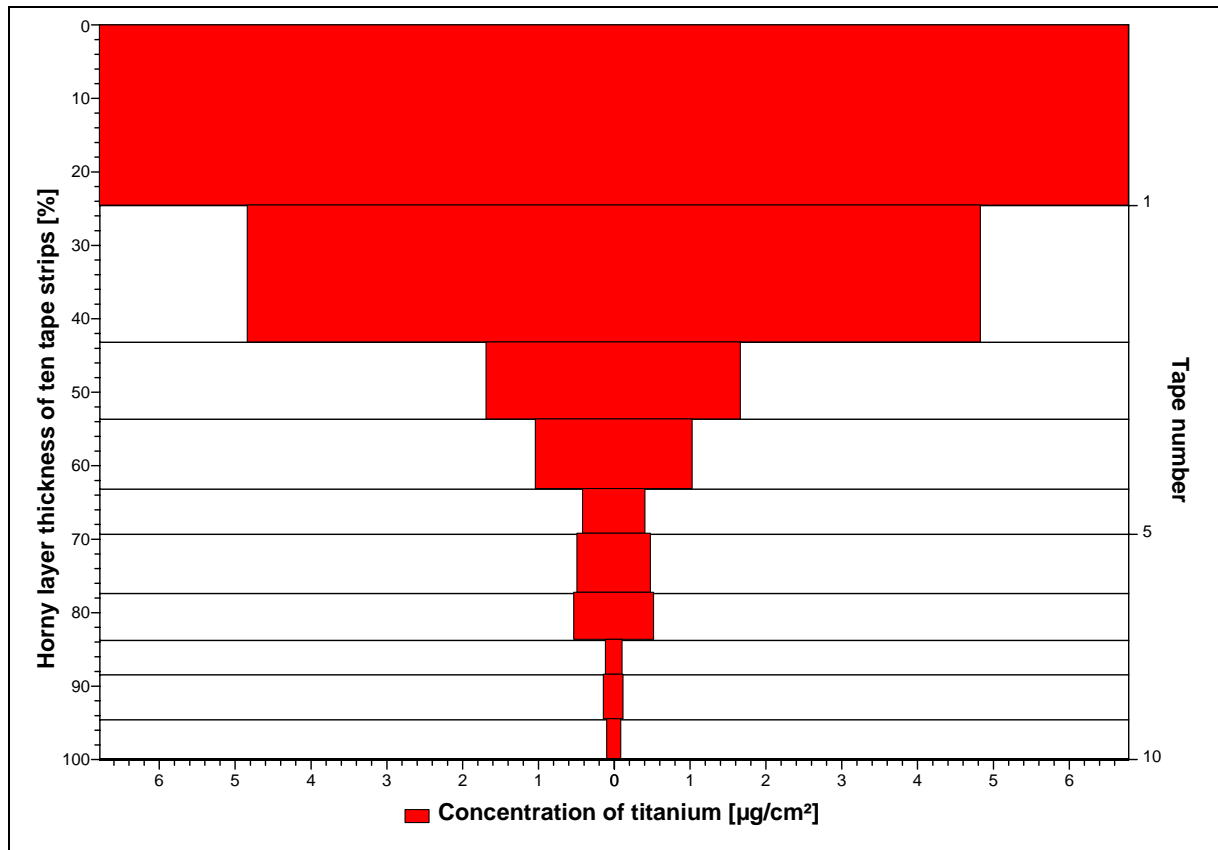


Abbildung 4.16: Penetrationsuntersuchungen mit dem Handelsprodukt Eucerin® Micropigment Creme (2. Probenserie)

Die Art der Darstellung ermöglicht eine bessere Vergleichbarkeit der Penetrationsprofile untereinander, da die unterschiedliche Menge an Korneozyten berücksichtigt wird, die pro Strip von der Haut entfernt wurde. Die Gesamtmenge an abgetragenen Korneozyten war nahezu identisch bei beiden Probenserien, verdeutlicht durch die nach Aufsummierung der Absorption erhaltenen ähnlichen Werte von 3,79 für die 1. Probenserie und 3,78 für die 2. Probenserie. Zur besseren Vergleichbarkeit wurden für die Erstellung der Penetrationsprofile die summierten Absorptionen auf 100% normiert. In der Graphik wurde auf der linken Ordinate der prozentuale Abtrag des Stratum corneums aufgetragen. Die rechte Ordinate deklariert die Nummer des Strips und die Abszisse stellt den Titangehalt dar.

Die Darstellungsweise zeigt deutlich die Abhängigkeit der abgetragenen Korneozytenmenge von der Nummer des Strips. Mit den ersten genommenen Strips werden wesentlich mehr Korneozytenaggregate vom Stratum corneum abgetragen als bei späteren Strips. Dies ist zu erklären mit dem stärkeren zellulären Zusammenhalt der Korneozyten in den tieferen Schichten des Stratum corneums.

#### 4.5.2. Penetrationsuntersuchungen mit dem Handelsprodukt Eucerin® Micropigment Creme nach Mehrfachapplikation

Bei dem vorliegenden Versuchsaufbau wurde der Einfluß der Mehrfachapplikation einer titandioxidhaltigen Formulierung auf das Ergebnis der Penetration beobachtet. Es erfolgte eine viermalige Applikation der Eucerin® Micropigment Creme auf die Unterarminnenfläche. Der zweite Auftrag war 2 Stunden nach Beginn der Untersuchung, der dritte Auftrag nach 21 Stunden und der vierte Auftrag nach 23 Stunden. Nach 24 Stunden erfolgte das Stripping auf der Unterarminnenseite, welche über den Zeitraum der Versuchsdauer vor Wasser geschützt wurde. Abbildung 4.17 vergleicht den Titangehalt des Stratum corneums nach einmaliger und mehrfacher Applikation.

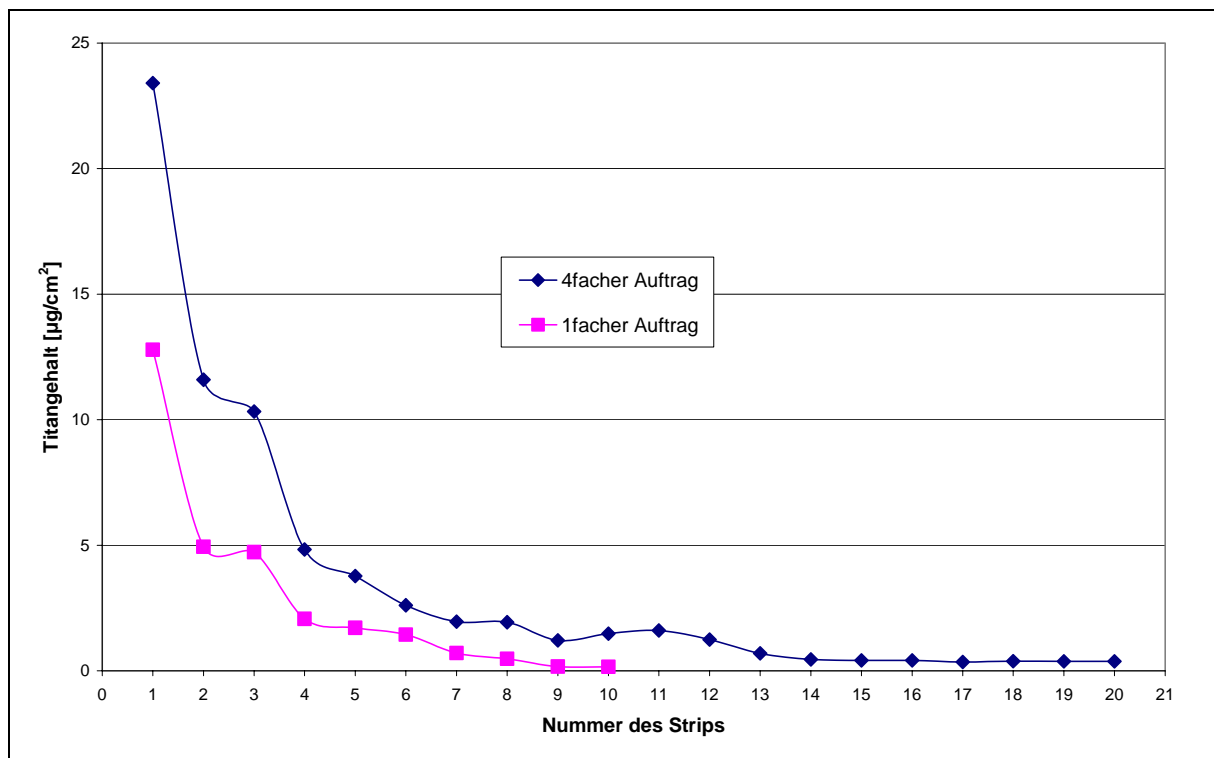


Abbildung 4.17: Vergleich Mehrfach- und Einfachapplikation der Eucerin® Micropigment Creme

Nach Mehrfachapplikation zeigt sich wie nach Einfachapplikation der exponentielle Verlauf der Penetrationskurve, wobei sich jedoch nach Mehrfachapplikation der Titangehalt bei den ersten Strips auf einem weitaus höheren Niveau befindet. Im

Vergleich zur Einfachapplikation wird bei der Mehrfachapplikation ein nahezu konstanter Titangehalt von  $0,4 \mu\text{l}/\text{cm}^2$  erst später ab Strip 14 erreicht. Die Unterschiede im Titangehalt ab dem 6. Strip zwischen Mehrfach- und Einfachapplikation liegen innerhalb der Schwankungsbreiten der Einzelwerte. Auf die Berücksichtigung der abgetragenen Korneozyten wurde im vorliegenden Fall verzichtet, da aufgrund des Auftrags der identischen Formulierung von einem vergleichbaren Abtrag der Korneozytenaggregate ausgegangen wurde. Eine verstärkte Penetration der Titandioxidpartikel ist nach vierfacher Applikation der Sonnenschutzformulierung und verlängerter Penetrationszeit nicht zu erkennen. Es wurde vermutet, daß ein vierfacher Auftrag der Formulierung und die verlängerte Penetrationszeit in einem höheren Titangehalt der tieferen Schichten des Stratum corneums resultiert.

#### **4.5.3. Penetrationsuntersuchung mit der mizellaren Formulierung**

Weitere Penetrationsuntersuchungen erfolgten mit einer mizellaren Formulierung, mit einem Titandioxidgehalt von 5%. Wie bereits bei den Penetrationsuntersuchungen der Eucerin® Micropigment Creme beschrieben, wurde die mizellare Formulierung auf zwei Bereiche der Unterarminnenseite in einer Konzentration von  $2 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  aufgetragen. Nach einer Verweilzeit von 45 Minuten wurde die überschüssige Formulierung mit einem trockenen Tuch entfernt und es erfolgte das Stripping mit Klebefilmstreifen. Wiederum wurden die nach entsprechender Aufarbeitung erhaltenen zwei Probenreihen jeweils zweimal an der AAS vermessen. Die Mittelwerte der entsprechenden Probenreihen nach AAS Bestimmungen sind in den folgenden Graphiken (Abbildung 4.18 und 4.19) mit den UV-spektrometrischen Ergebnissen zur Ermittlung der abgetragenen Korneozytenaggregate verknüpft.

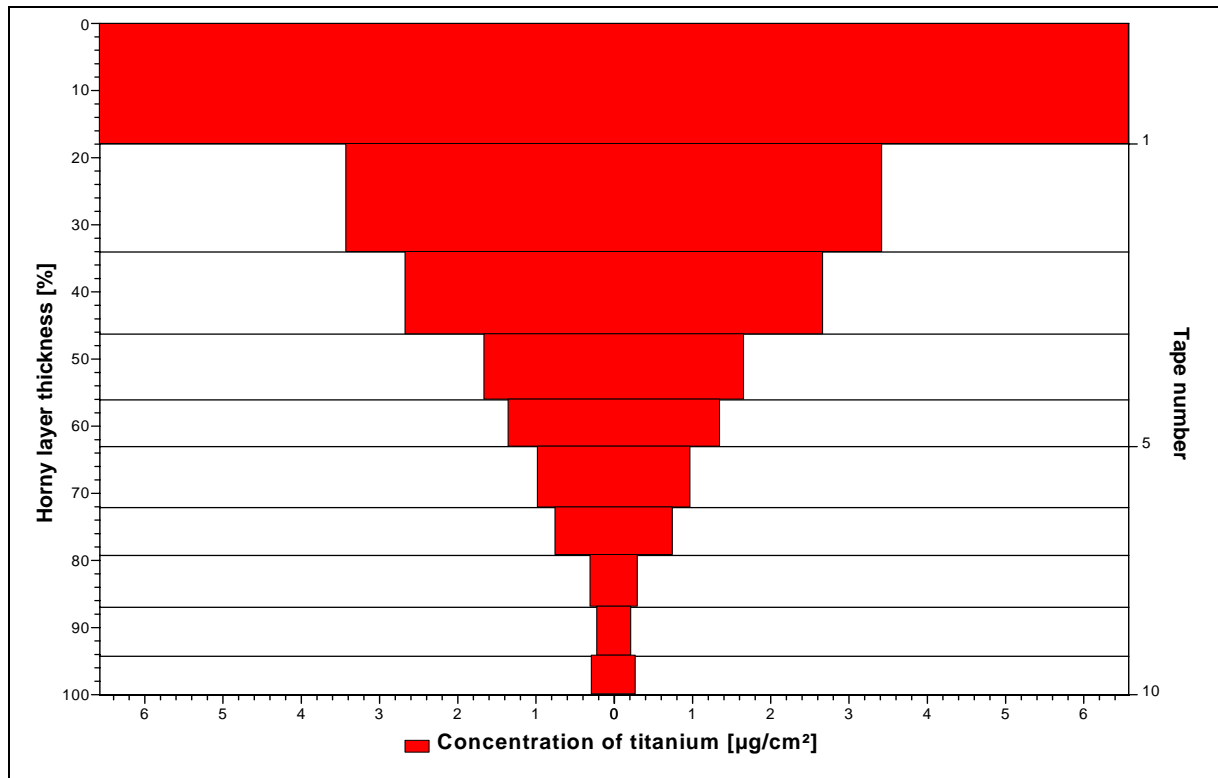


Abbildung 4.18: Penetrationsuntersuchung mit der mizellaren Formulierung (1. Probenserie)

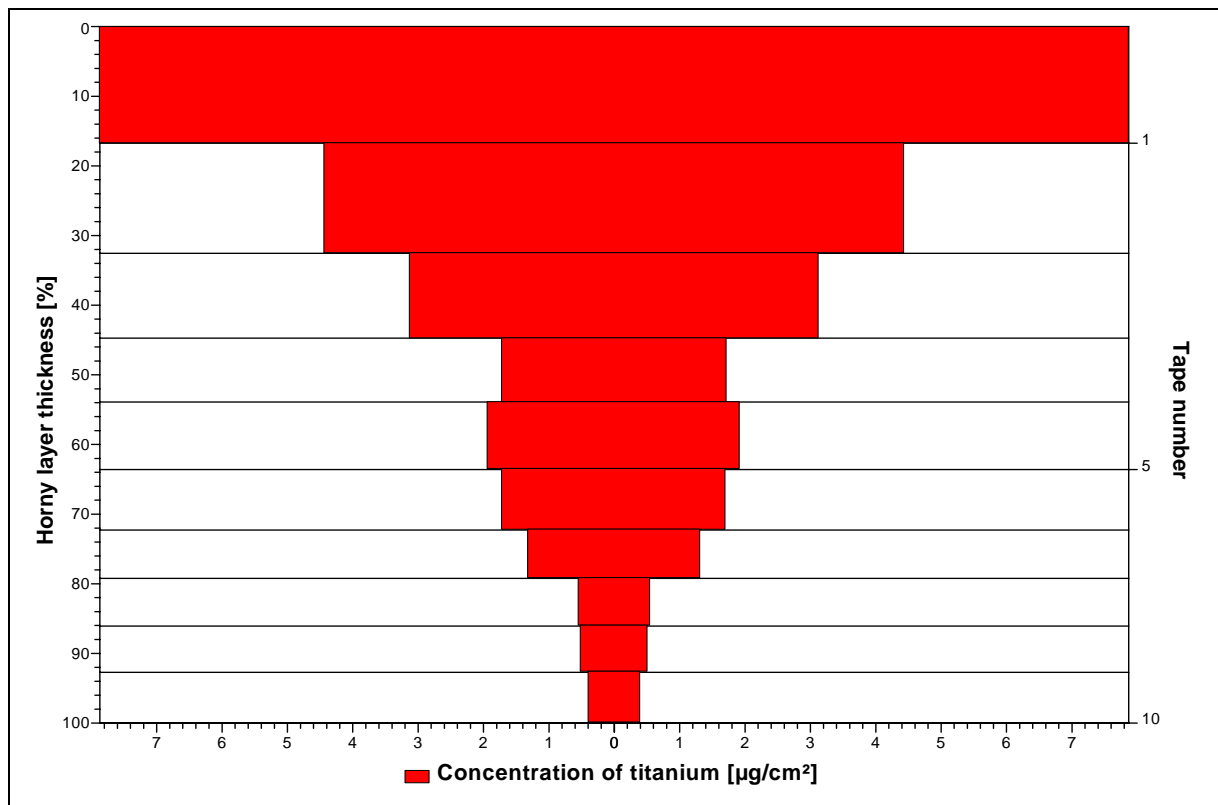


Abbildung 4.19: Penetrationsuntersuchung mit der mizellaren Formulierung (2. Probenserie)



Bei den Penetrationsuntersuchungen mit der mizellaren Formulierung zeigt sich wiederum der exponentielle Abfall der Titankonzentration bei den Strips, welche aus den tieferen Bereichen des Stratum corneums entnommen wurden.

Der Vergleich mit den Ergebnissen der Eucerin® Micropigment Creme zeigt keine deutlichen Unterschiede weder in der Titankonzentration noch in der abgetragenen Menge an Korneozytenaggregaten.

#### **4.5.4. Penetrationsuntersuchungen der Aerosil® stabilisierten mizellaren Formulierungen**

Durch die verwendete Formulierung und ebenfalls durch die verwendeten Bestandteile innerhalb der Formulierung kann die Penetration von Wirkstoffmolekülen beeinflusst werden [23]. Zur Untersuchung einer möglichen Beeinflussung der Penetration der Titandioxid Mikropartikel durch den Zusatz des viskositätserhöhenden Aerosil® wurde eine Formulierung mit einem Anteil von 4% Aerosil® auf zwei Bereiche der Unterarminnenseite aufgebracht. Die Penetrationsprofile sind in den Abbildungen 4.19 und 4.20 dargestellt.

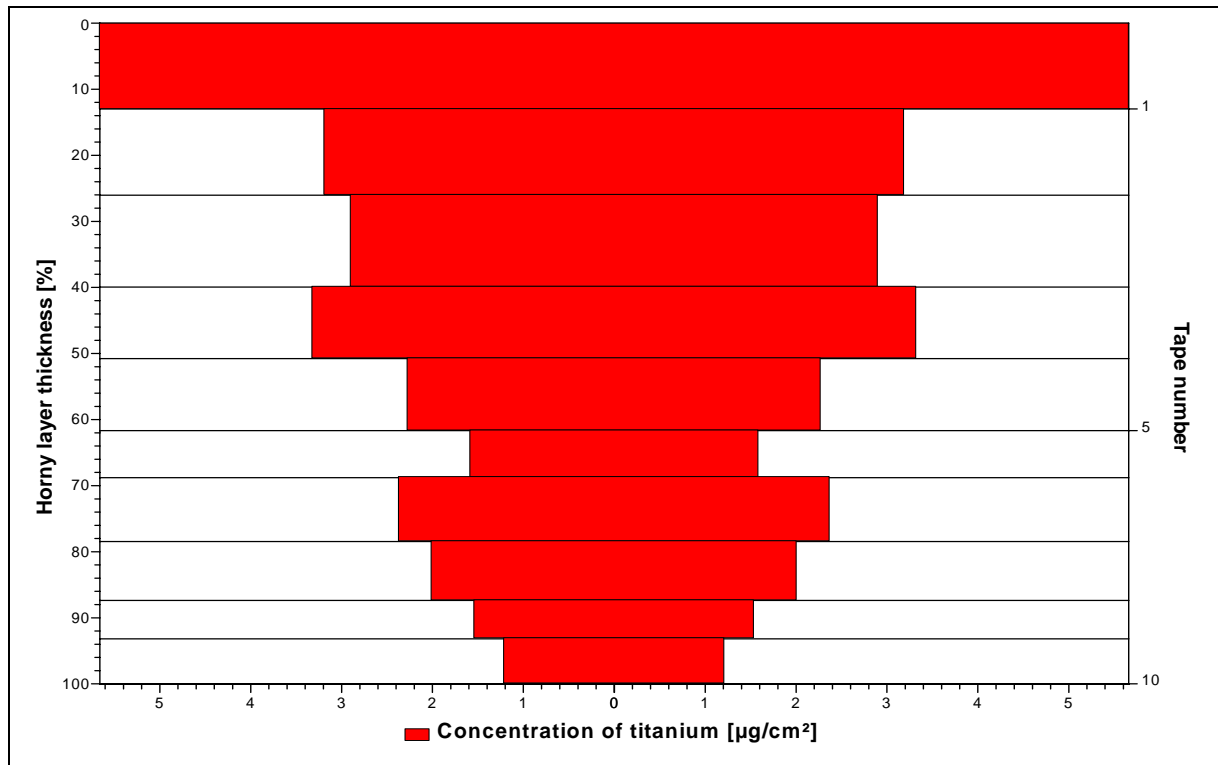


Abbildung 4.19: Penetrationsuntersuchung mit der Aerosil® stabilisierten mizellaren Formulierung (1. Probenserie)

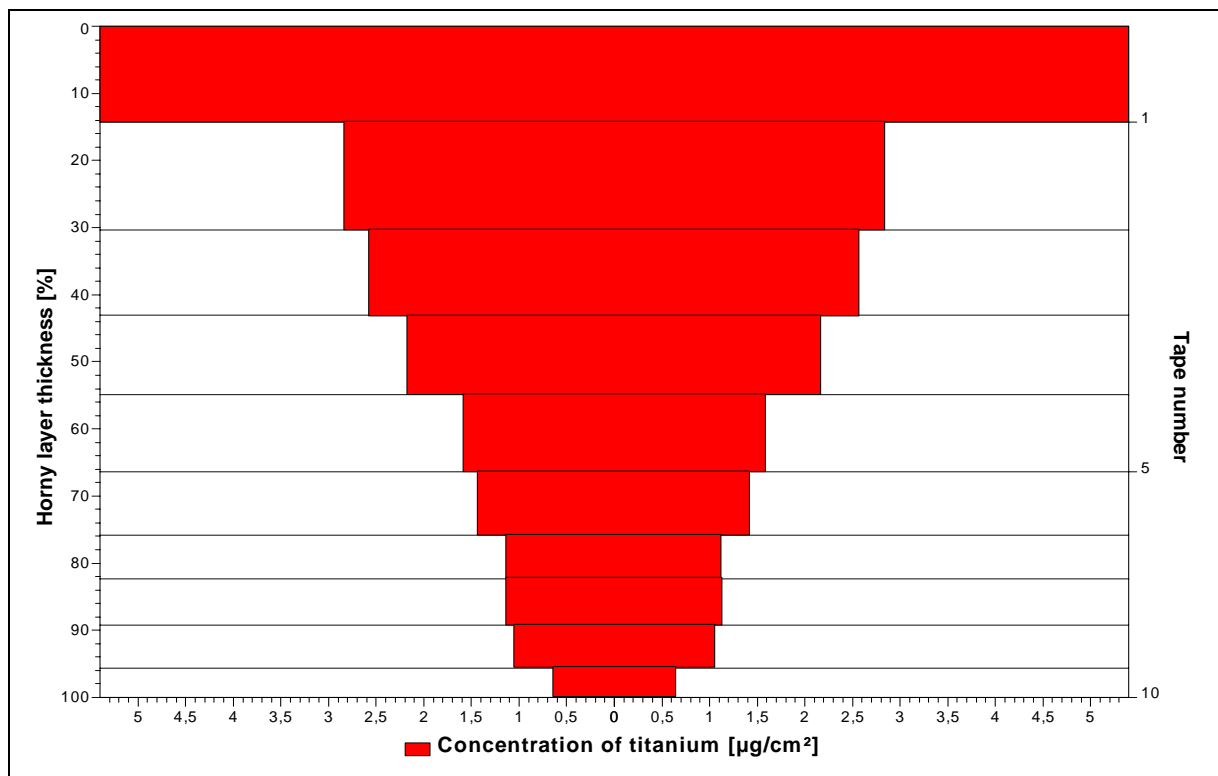


Abbildung 4.20: Penetrationsuntersuchung mit der Aerosil® stabilisierten mizellaren Formulierung (2. Probenserie)

Bei der Betrachtung der Graphiken für die Penetrationsuntersuchungen der Aerosil® stabilisierten mizellaren Lösung zeigt sich im Vergleich zu den bereits dargestellten Penetrationsuntersuchungen eine höhere Titankonzentration in den tieferen Bereichen des Stratum corneums. In den tieferen Schichten des Stratum corneums ist eine Titankonzentration von  $2 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  detektierbar, die weitaus höher liegt als bei Anwendung der vorhergehenden Formulierungen. Bei der Summierung der UV-Absorptionen der einzelnen Strips ergab sich bei den Aerosil® stabilisierten mizellaren Systemen ein geringerer Wert im Vergleich zu den vorhergehenden Penetrationsuntersuchungen. Dies zeigt, daß bei Anwendung der Aerosil® stabilisierten mizellaren Formulierungen nach 10 Strips weniger Schichten des Stratum corneums abgetragen wurden und man sich nach 10 Strips erst in den höheren Bereichen des Stratum corneums befindet, verglichen zu den vorherigen Untersuchungen.

#### **4.5.5. Penetrationsuntersuchungen der HPMC stabilisierten mizellaren Formulierungen**

Zur Stabilisierung der mizellaren Formulierung wurde ebenfalls der Viskositätserhöher HPMC eingesetzt. Die Auswirkungen der unterschiedlichen HPMC Zusätze auf die Penetration der Titandioxid Mikropartikel in das humane Stratum corneum sollen durch die folgenden Versuche gezeigt werden.

Es wurde ein Stripping auf den Unterarminnenseiten des rechten und des linken Armes durchgeführt. Auf jeden Arm wurden drei Formulierungen aufgebracht, es handelte sich hierbei um eine mit 1% HPMC und 3% HPMC stabilisierte mizellare Formulierung und zusätzlich noch um eine mizellare Lösung ohne den Zusatz von HPMC und Titandioxid. Zur Ermittlung der pro Strip abgetragenen Menge an Korneozytenaggregaten wurde bei diesen Untersuchungen zusätzlich zur Messung der UV-Absorptionen ebenfalls eine direkte mikroskopische Methode mit Hilfe des Invertoskopes gewählt.

Die abgetragene Korneozytenmenge wurde bei den Strips bestimmt, welche von den mit der Placebo Formulierung behandelten Bereichen genommen wurden. Bei den folgenden Graphiken der Penetrationsuntersuchungen wurde die direkte mikroskopische Methode zur Ermittlung der abgetragenen Korneozytenmenge mit

den Ergebnissen der Titanbestimmung verknüpft. Die Abbildungen 4.21 und 4.22 zeigen die Graphiken der Penetrationsuntersuchungen nach Anwendung der mit 1% HPMC stabilisierten mizellaren Formulierung.

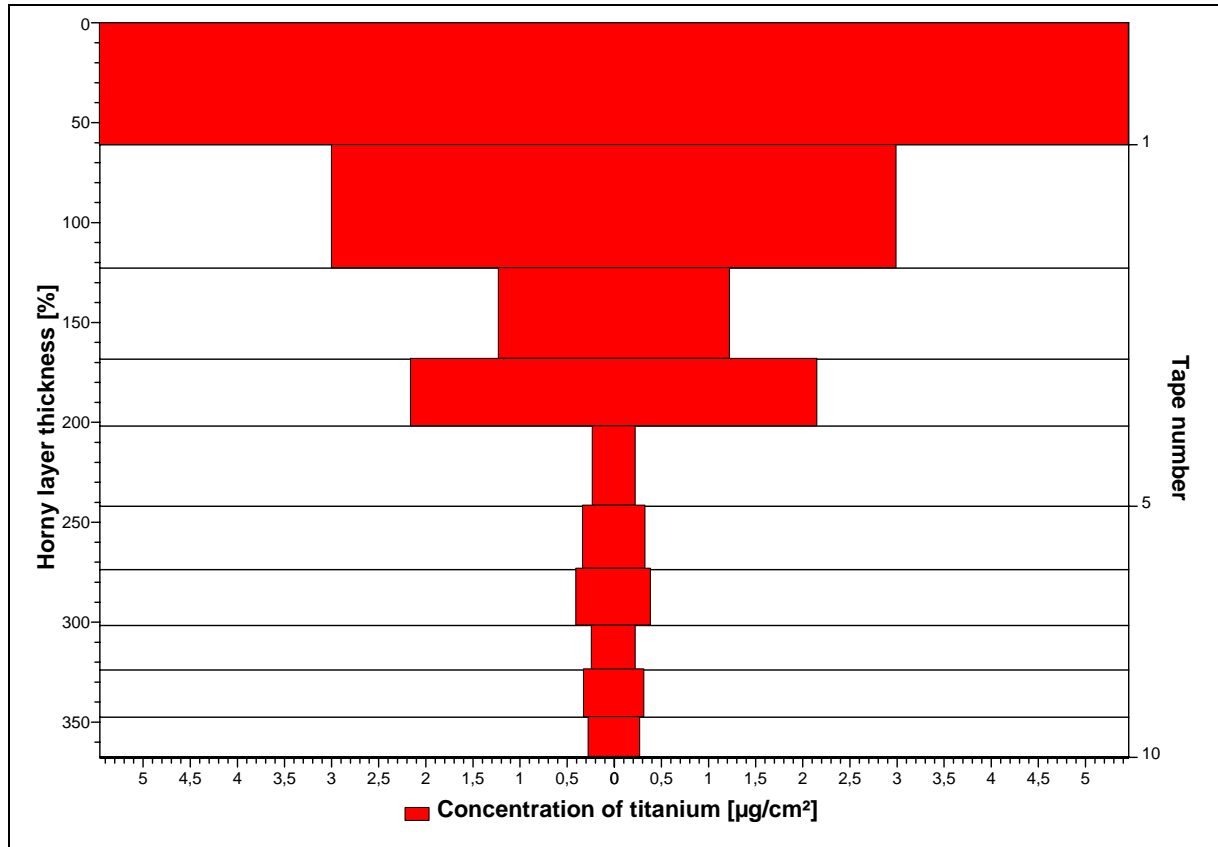


Abbildung 4.21: Penetrationsuntersuchung mit der mit 1% HPMC stabilisierten mizellaren Formulierung (1. Probenserie)

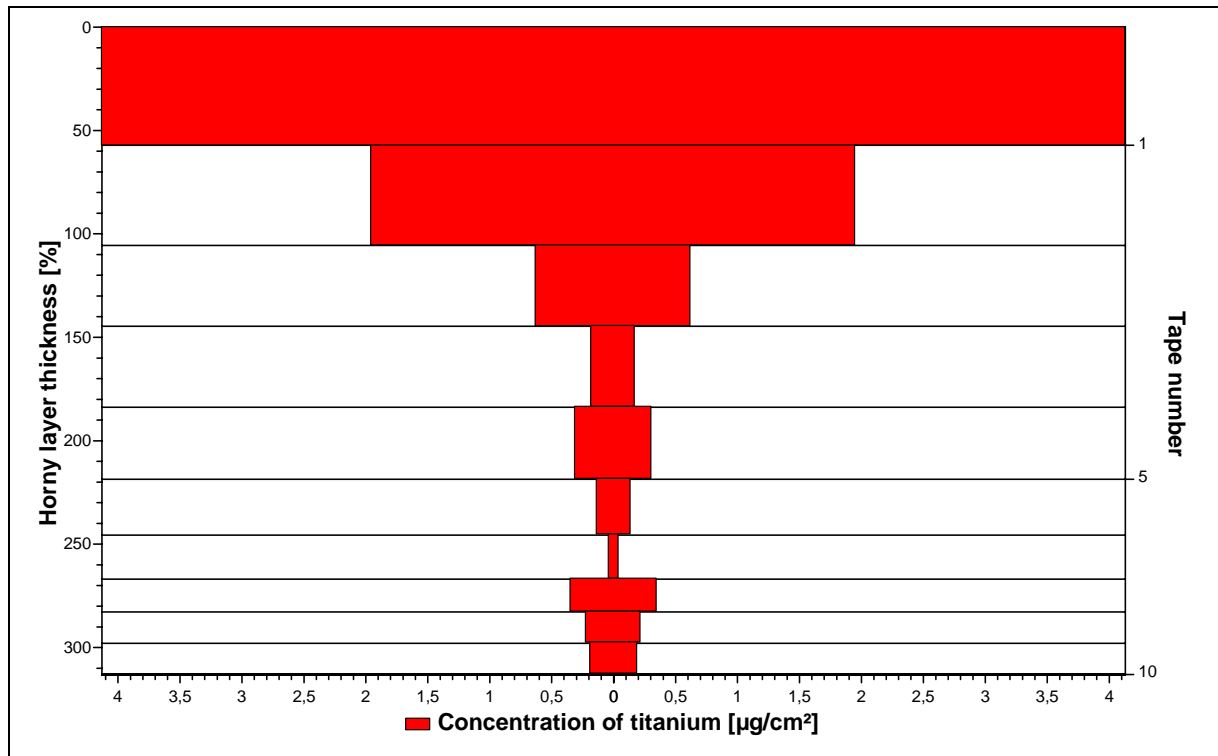


Abbildung 4.22: Penetrationsuntersuchung mit der mit 1% HPMC stabilisierten mizellaren Formulierung (2. Probenserie)

Auf den Abbildungen 4.23 und 4.24 sind die Ergebnisse der Penetrationsuntersuchungen nach Auftrag einer mit 3% HPMC stabilisierten mizellaren Formulierung dargestellt.

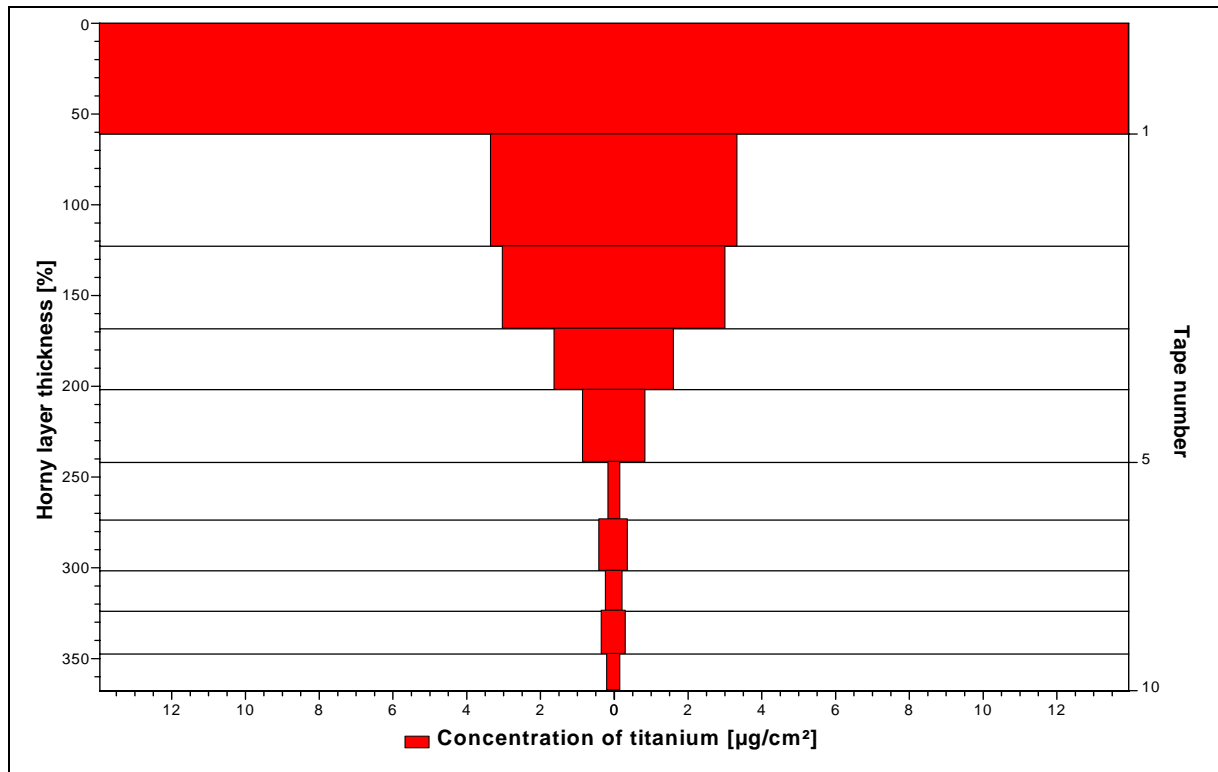


Abbildung 4.23: Penetrationsuntersuchung mit der mit 3% HPMC stabilisierten mizellaren Formulierung (1. Probenserie)

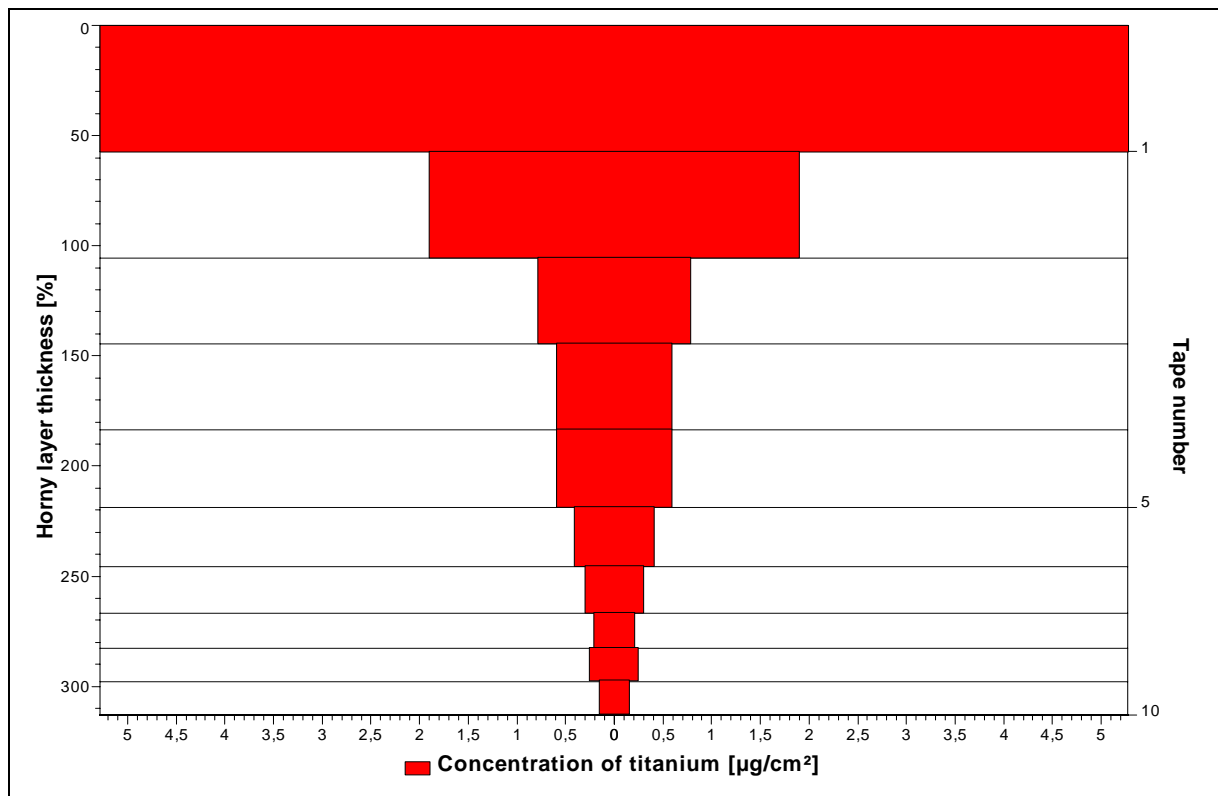


Abbildung 4.24: Penetrationsuntersuchung mit der mit 3% HPMC stabilisierten mizellaren Formulierung (2. Probenserie)

Die Einteilung der linken Ordinate unterscheidet sich in ihrer Skalierung von den Ordinaten der Graphiken der vorhergehenden Untersuchungen. Zur Ermittlung der pro Strip abgetragenen Korneozytenaggregate wurde mit Hilfe der vorgestellten direkten mikroskopischen Methode die prozentuale Fläche auf dem Strip bestimmt, welche von Korneozytenaggregaten bedeckt ist. Die Summierung der Ergebnisse der auf den einzelnen Strips mit Korneozyten bedeckten Flächen führt zu Werten über 100%. Beide Methoden zur Bestimmung der abgetragenen Korneozytenaggregate, auf der einen Seite die UV-spektrometrische Methode und auf der anderen Seite die direkte mikroskopische Methode, zeigen vergleichbare Ergebnisse. Beide Methoden können allerdings nur Tendenzen über die abgetragene Korneozytenmenge liefern, da nur ein kleiner Ausschnitt des genommenen Strips für die Auswertung herangezogen werden kann. Für die folgenden Untersuchungen ab Kapitel 4.5.6. wurden dennoch die Ergebnisse der mikroskopischen Auswertung herangezogen, da sie eine direkte Bestimmung der Korneozytenaggregate auf den Strips gewährleisten.

Beim Vergleich der Abbildungen 4.21-4.24 sind keine deutlichen Unterschiede im Titangehalt der unterschiedlichen Schichten des Stratum corneums, verursacht durch den unterschiedlichen HPMC Gehalt der mizellaren Formulierung zu beobachten. Bei den untersuchten Probenserien strebt der Titangehalt ab dem 6. Strip einem Endwert von  $0,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  entgegen. Auffällig ist jedoch der stark erhöhte Wert für den Titangehalt des 1. Strips der 1. Probenserie der mit 3% HPMC stabilisierten mizellaren Formulierung, welcher mit einer nicht vollständigen Entfernung der überschüssigen Formulierung erklärt werden kann.

#### **4.5.6. Penetrationsuntersuchungen mit einer liposomalen Formulierung**

Neben Penetrationsuntersuchungen mit unterschiedlichen Varianten der mizellaren Formulierung wurden ebenfalls Untersuchungen zur Penetration der Titandioxid Mikropartikel durchgeführt, bei denen die Mikropartikel in einer liposomalen Formulierung verarbeitet wurden. Die Liposomen sind aus einer oder mehreren Lipiddoppelschichten aufgebaut, wie es deutlich bei den transmissionselektronenmikroskopischen Aufnahmen nach Gefrierbruch (Kapitel 4.2.4.1.) oder Negativkontrastierung (Kapitel 4.2.4.2.) zu erkennen ist. Bei einer

binären Mischung aus 20% Lecithin und 80% Wasser entstehen zweiphasige Vesikelsuspensionen von gelartiger Konsistenz [96]. Eine mögliche Fixierung der Titandioxid Mikropartikel zwischen den vorhandenen Vesikeln, oder die Einbindung der Mikropartikel zwischen die Lipiddoppelschichten könnte zu einer Verhinderung der Agglomeration der Titandioxid Mikropartikel führen.

Liposomalen Formulierungen wird im Vergleich zu nicht liposomalen Formulierungen häufig ein penetrationsfördernder Effekt für Wirkstoffmoleküle zugeschrieben [97]. Einige Autoren verneinen jedoch diesen Effekt [98].

Die Untersuchungen zur Penetration von Titandioxid Mikropartikeln aus einer liposomalen Formulierung sind im folgenden dargestellt.

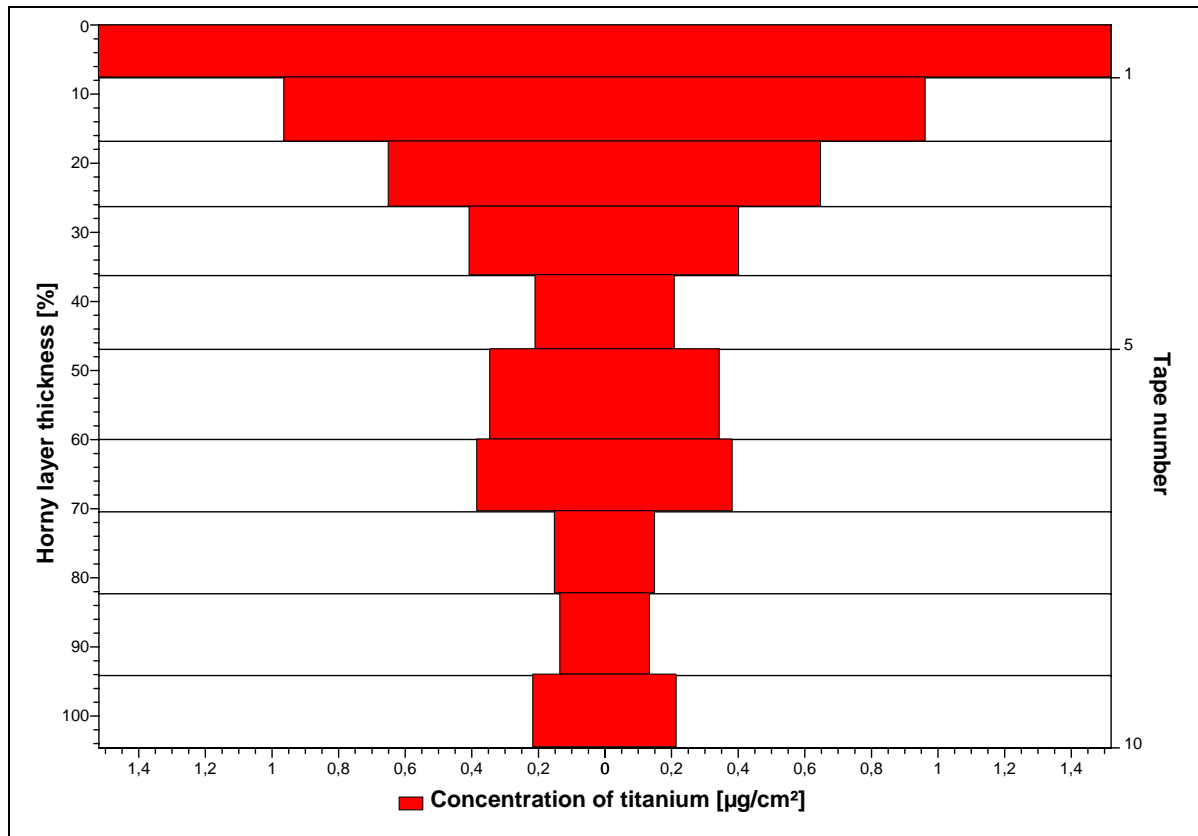


Abbildung 4.25: Penetrationsuntersuchung mit der liposomalen Formulierung (1. Probenserie)



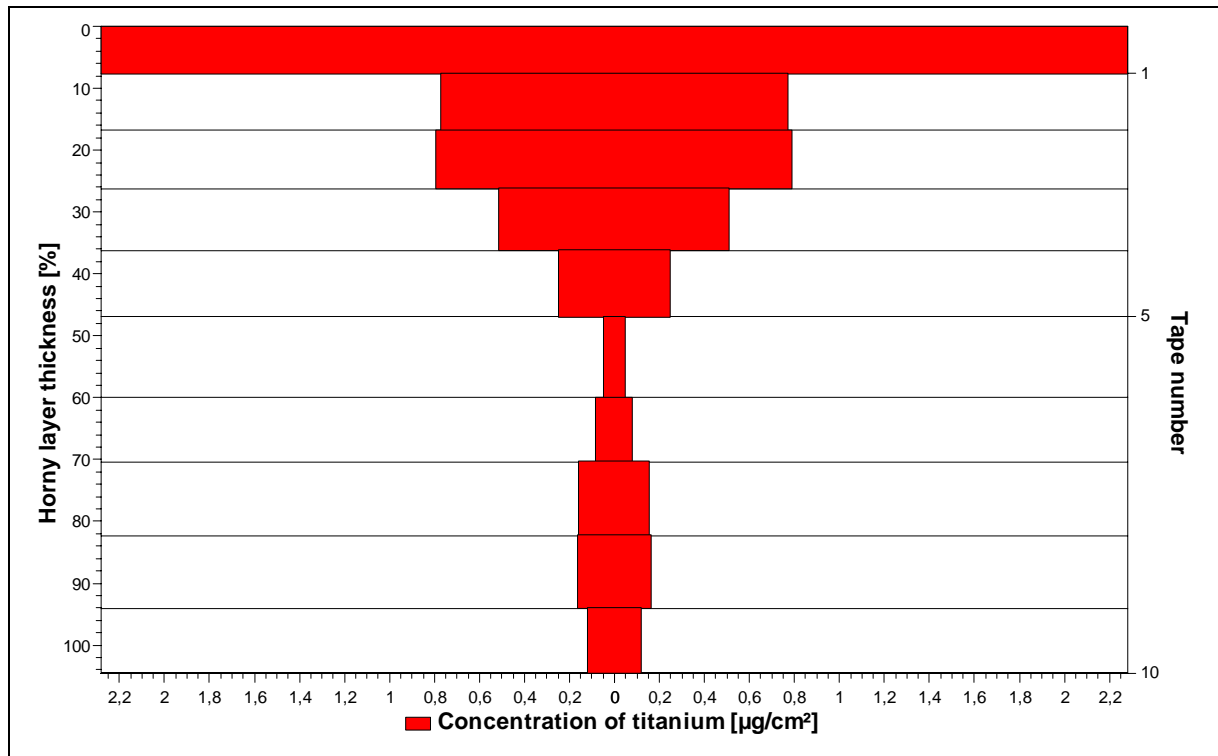


Abbildung 4.26: Penetrationsuntersuchung mit der liposomalen Formulierung (2. Probenserie)

In den abgetrennten Hautschichten ist nur ein geringer Titangehalt zu finden, verglichen mit den vorhergehenden Untersuchungen. Dies ist zu erklären mit der nach 10 Strips geringen Menge an abgetragenen Korneozytenaggregaten. Untersuchungen von Bennat geben einen vergleichbaren Titangehalt der einzeln abgetragenen Zellschichten von  $0,1 - 0,4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  bis zum 15. Strip an [58].

Weitere modifizierte Untersuchungen mit der liposomalen Zubereitung sind in den späteren Kapiteln dargestellt.

#### 4.5.7. Penetrationsuntersuchungen mit einer mizellaren Formulierung (Reinigungstest)

Nach einer Verweilzeit von 45 Minuten nach Auftrag der mizellaren Formulierung auf beide Unterarminnenseiten, wurde eine Unterarminnenseite für einen Zeitraum von 5 Minuten mit fließendem Wasser gereinigt, während die zweite Unterarminnenseite bereits einem Stripping unterzogen wurde. Nach einer Wartezeit von weiteren 15 Minuten wurde der gereinigte Hautbereich ebenfalls einem Stripping unterzogen. Der Reinigungsvorgang soll Titandioxid Mikropartikel, welche sich in den Hautfalten aufhalten, aus diesen entfernen. In Hautfalten abgelagertes Titandioxid könnte erst

bei später genommenen Strips entfernt werden und damit könnte eine Penetration vorgetäuscht werden. Die Graphiken 4.27 und 4.28 stellen die Penetrationsprofile ohne vorgeschalteten Waschvorgang dar, wohingegen die Graphiken 4.29 und 4.30 die Penetrationsprofile nach Waschvorgang zeigen. Bei der Erstellung der Penetrationsprofile wurden für die Bestimmung der abgetragenen Korneozytenmenge wiederum die Ergebnisse der mikroskopischen Auswertung der Strips herangezogen. Ein Vergleich der spektrometrischen Auswertung der Absorption mit der mikroskopischen Auswertung unter Bestimmung der von den Korneozyten bedeckten Fläche weist Korrelationskoeffizienten von 0,8 auf.

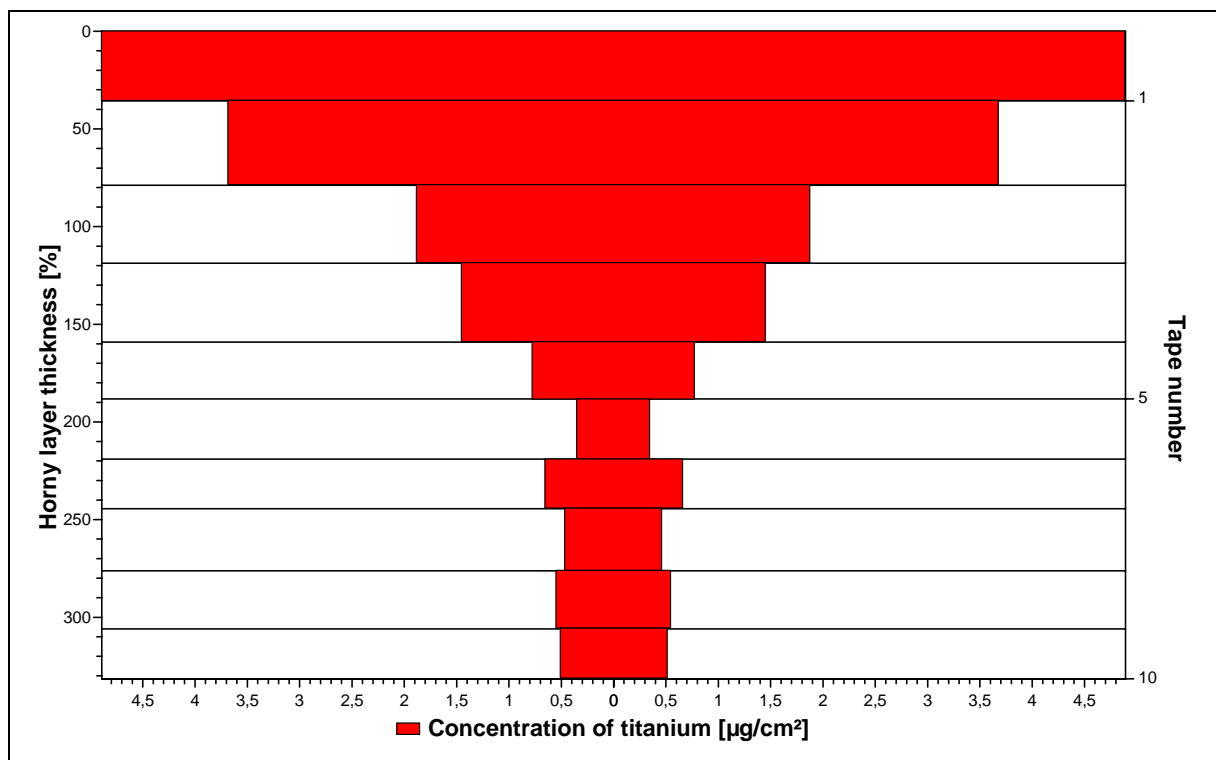


Abbildung 4.27: Penetrationsuntersuchung mit der mizellaren Formulierung ohne Waschvorgang (1. Probenreihe)

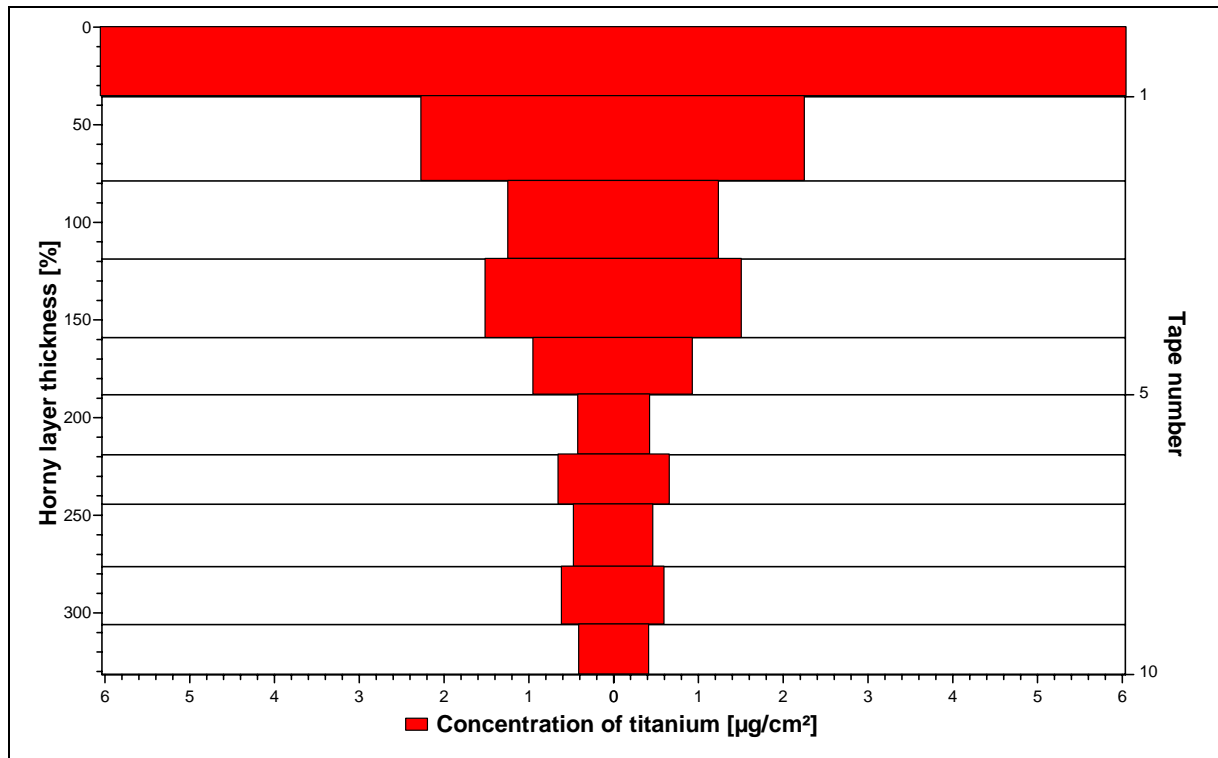


Abbildung 4.28: Penetrationsuntersuchung mit der mizellaren Formulierung ohne Waschvorgang (2. Probenserie)

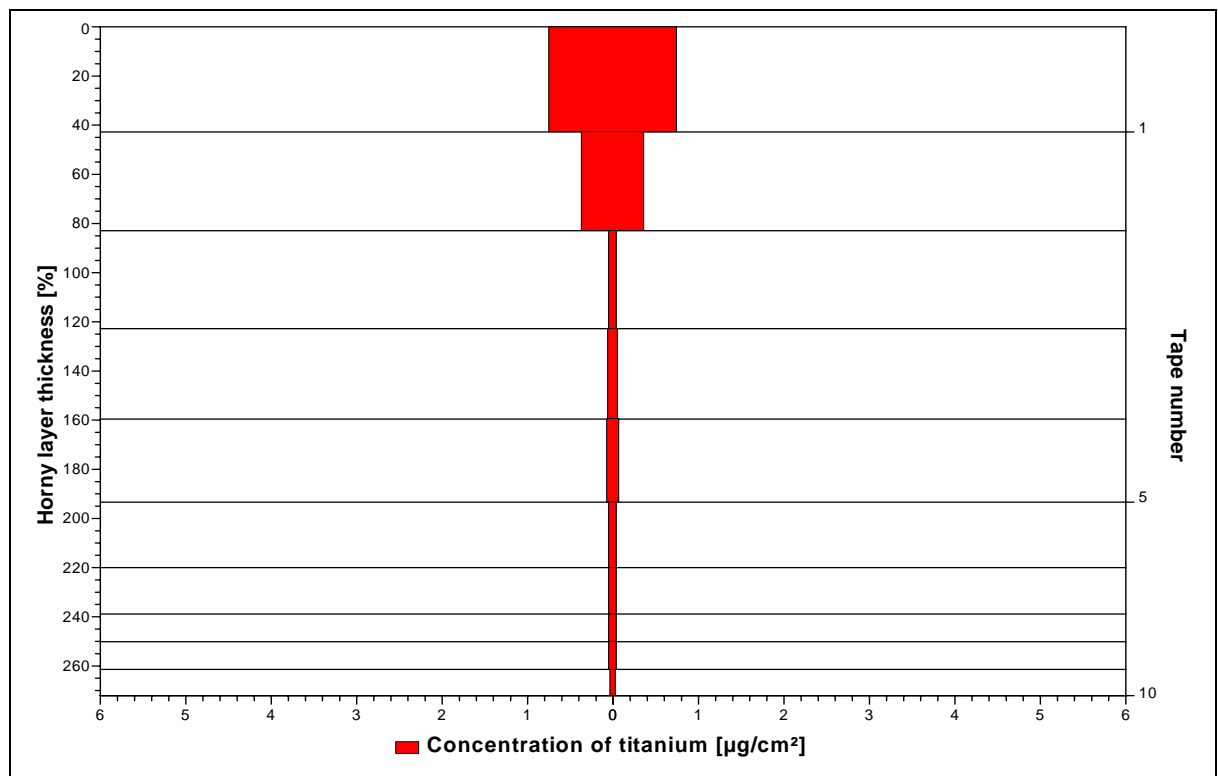


Abbildung 4.29: Penetrationsuntersuchung mit der mizellaren Formulierung nach Waschvorgang (1. Probenserie)

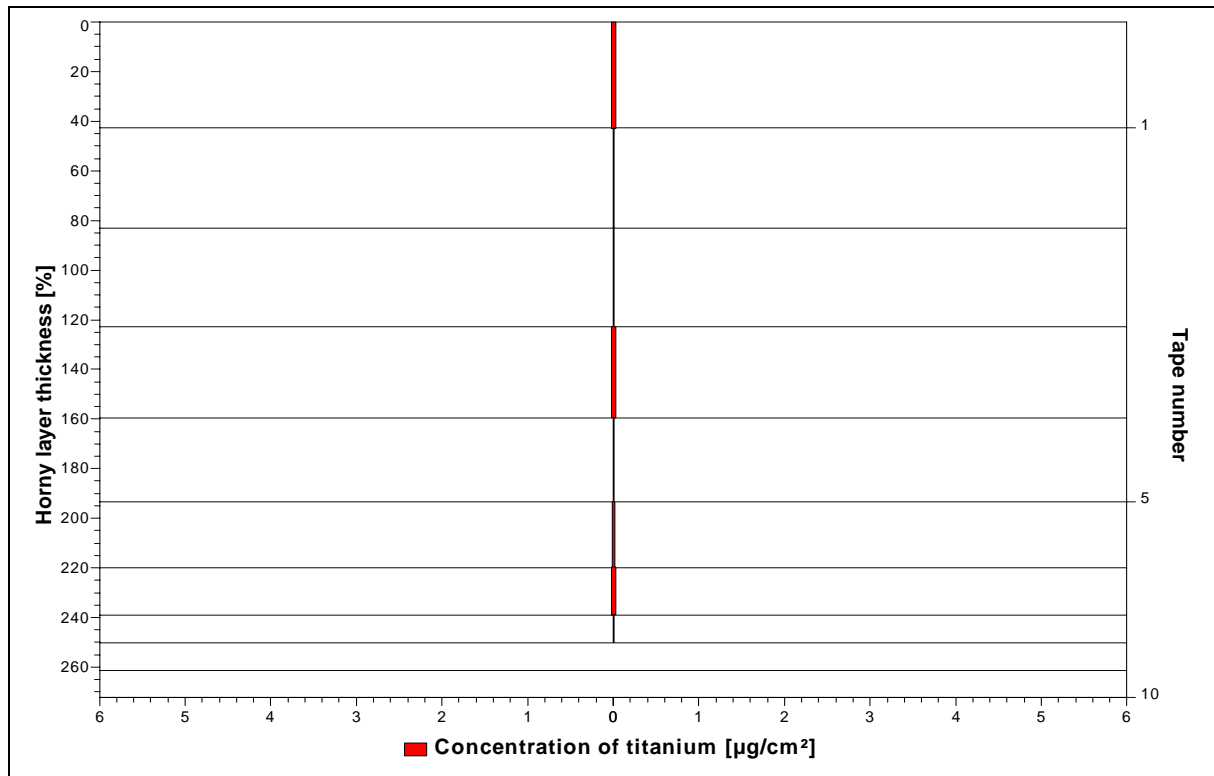


Abbildung 4.30: Penetrationsuntersuchung mit der mizellaren Formulierung nach Waschvorgang (2. Probenserie)

Bei der Betrachtung der Penetrationsprofile nach unterschiedlicher Vorbehandlung des untersuchten Hautbereiches sind die unterschiedlichen Titankonzentrationen der abgetragenen Hautschichten deutlich zu erkennen. Der Waschvorgang des zu strippenden Bereiches führt zu einer starken Abnahme der Titankonzentration innerhalb des Stratum corneums, wie in Abbildung 4.29 und 4.30 zu erkennen ist. Bei der atomabsorptionsspektrometrischen Analyse der 2. Probenserie ist bei den Strips Nummer 9 und 10 kein Titan mehr nachweisbar.

#### 4.5.8. Penetrationsuntersuchung mit einer liposomalen Formulierung (Reinigungstest)

Der bereits in Kapitel 4.5.7. beschriebene Versuchsaufbau wurde ebenfalls unter Anwendung der liposomalen Formulierung durchgeführt, um mögliche Einflüsse der Formulierung auf das Ergebnis der Penetration zu erkennen. Die Graphiken 4.31 und 4.32 zeigen die Penetrationsprofile nach Auftrag der Liposomenformulierung ohne vorgeschaltetes Waschen des untersuchten Hautbereiches. Ein 5 minütiger

Waschvorgang war dem Stripping zur Ermittlung der Penetrationsprofile 4.33 und 4.34 vorgeschaltet.

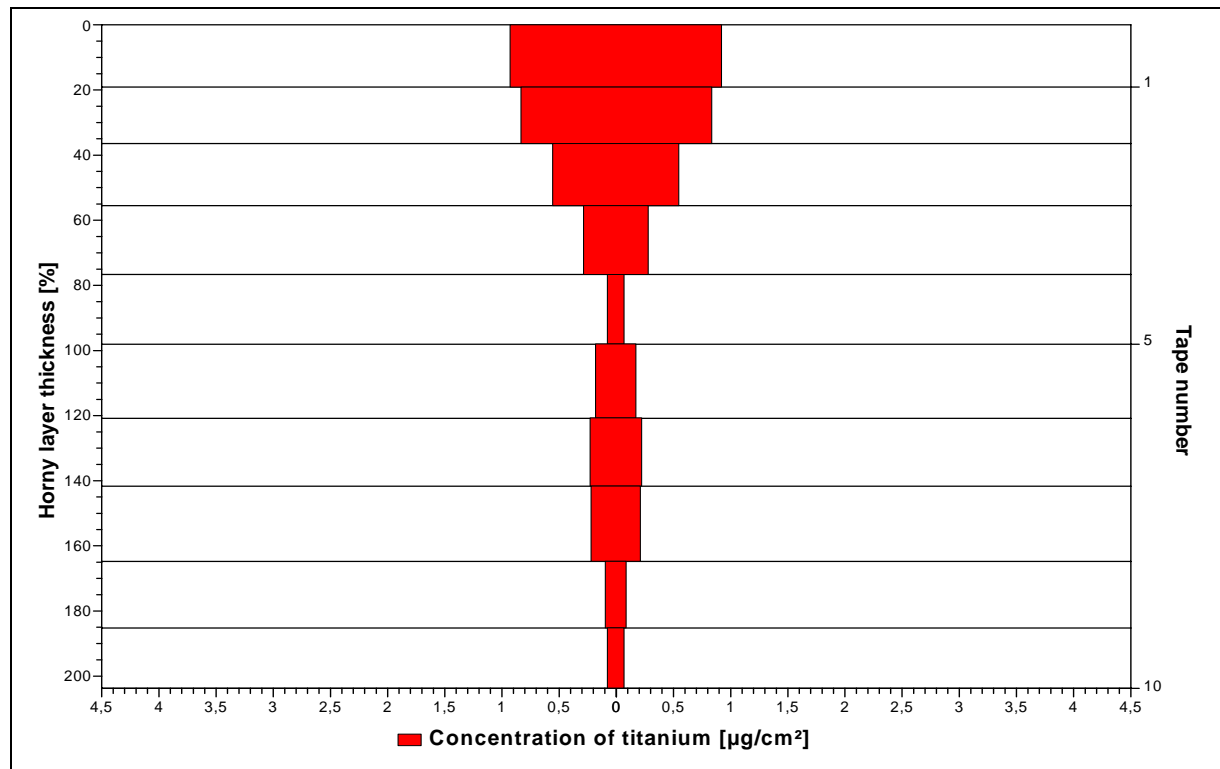


Abbildung 4.31: Penetrationsuntersuchung mit der liposomalen Formulierung ohne Waschvorgang (1. Probenserie)

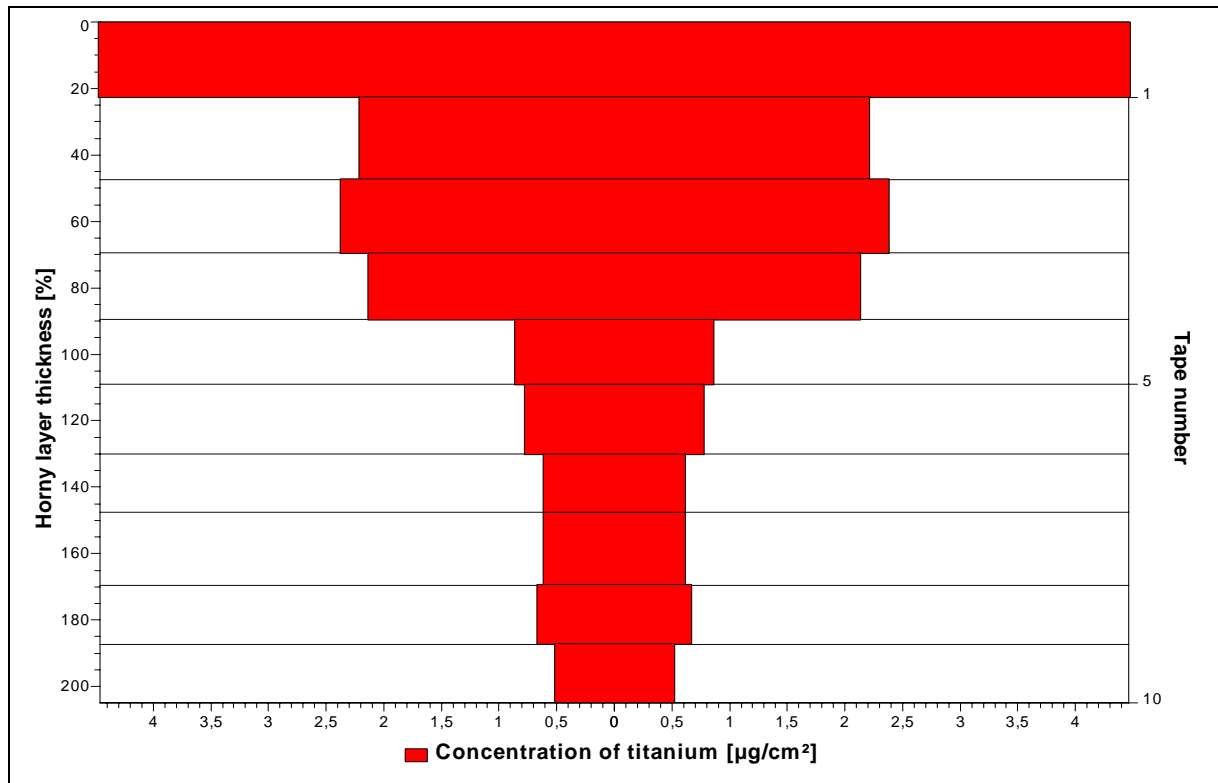


Abbildung 4.32: Penetrationsuntersuchung mit der liposomalen Formulierung ohne Waschvorgang (2. Probenserie)

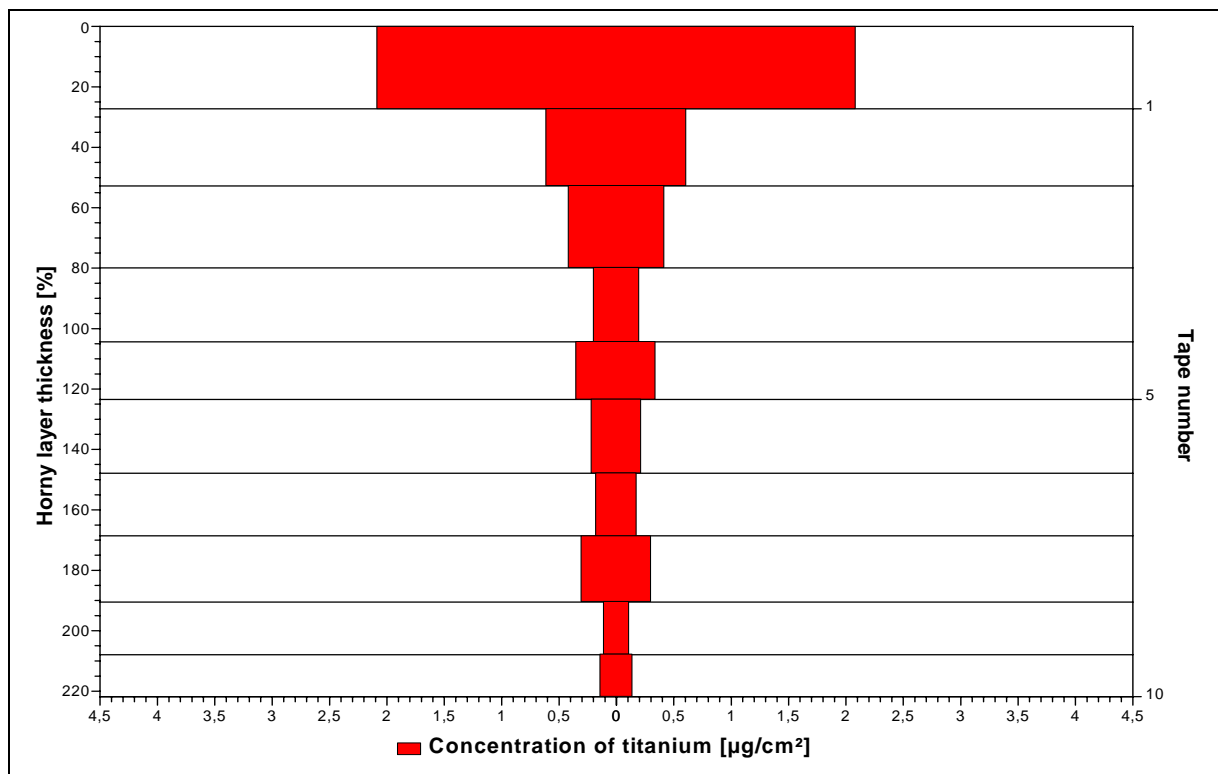


Abbildung 4.33: Penetrationsuntersuchung mit der liposomalen Formulierung nach Waschvorgang (1. Probenserie)

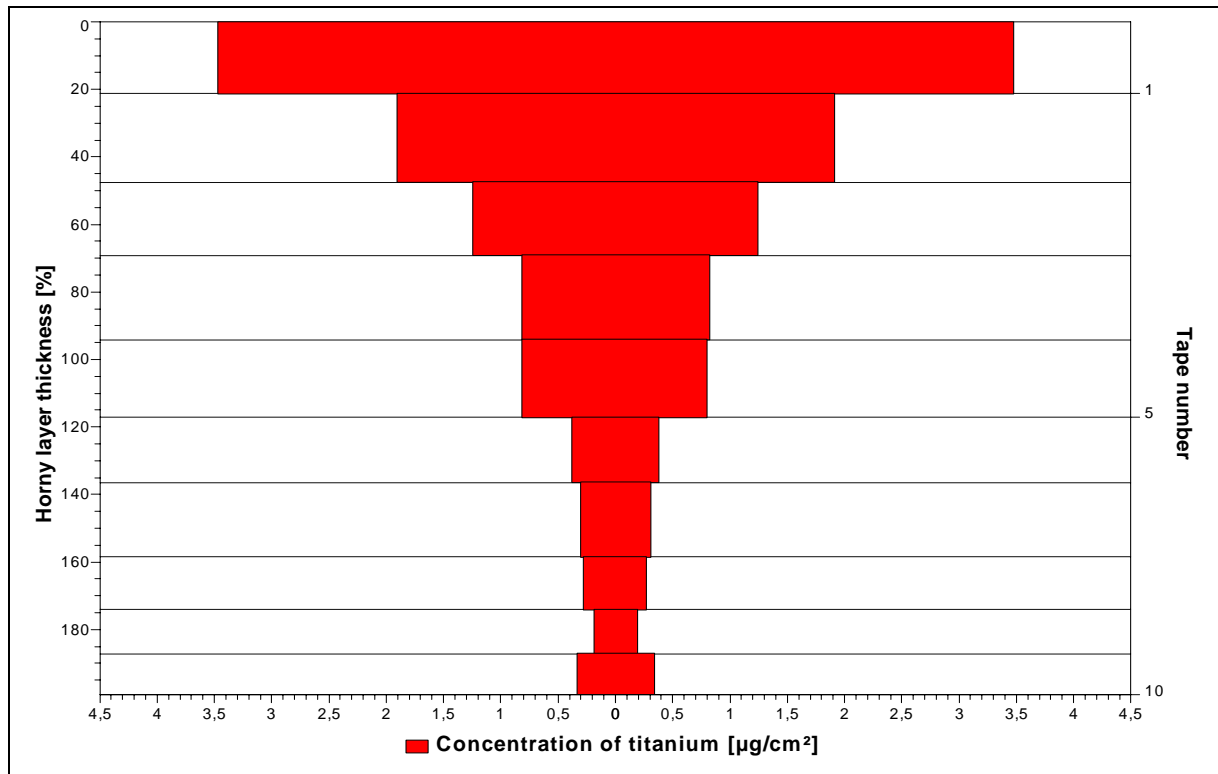


Abbildung 4.34: Penetrationsuntersuchung mit der liposomalen Formulierung nach Waschvorgang (2. Probenserie)

Die Betrachtung der Penetrationsprofile nach Auftrag der liposomalen Formulierung zeigt, daß auch nach einem vorgeschaltetem Waschvorgang der behandelten Stelle bei später genommenen Strips Titan nachweisbar ist. Die geringeren Werte im Titangehalt bei der Untersuchung ohne vorgeschalteten Waschvorgang (s. Abbildung 4.31) können auf einen ungleichmäßigen Auftrag der Formulierung zurückgeführt werden. Bei den Strips aus tieferen Hautschichten ist eine Titankonzentration von  $1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  nachweisbar. Die Ergebnisse nach Auftrag der liposomalen Formulierung stehen im starken Kontrast zu den Penetrationsprofilen nach Auftrag der mizellaren Formulierung.

#### 4.5.9. Langzeituntersuchungen zur Penetration von mikrofeinem Titandioxid in Humanhaut

Die Verweilzeit der aufgetragenen Formulierung bei den bereits dargestellten Untersuchungen war auf einen Zeitraum von 45 Minuten festgelegt. Bei den vorliegenden Untersuchungen wurde die Verweilzeit auf einen Zeitraum von

24 Stunden verlängert. Nach 24 Stunden erfolgte das Stripping auf beiden Unterarminnenseiten, wobei wiederum eine Unterarminnenseite für einen Zeitraum von 5 Minuten zuvor unter fließendem Wasser gereinigt wurde. Die Anzahl der genommenen Strips verdoppelte sich auf 20 Strips, da bei Untersuchung der liposomalen Formulierung noch Titankonzentrationen von  $1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  im 10. Strip zu detektieren waren. Die Entnahme von 20 Strips soll Aufschlüsse über den Verlauf der Titankonzentration in den tieferen Schichten des Stratum corneums bringen.

#### 4.5.9.1. Penetrationsuntersuchung mit einer liposomalen Formulierung (Langzeituntersuchung)

Die Graphiken 4.35 und 4.36 zeigen die Penetrationsprofile nach Anwendung der liposomalen Formulierung und einer Verweilzeit der Formulierung von 24 Stunden auf der Unterarminnenseite, ohne vorgeschaltetes Waschen des behandelten Hautareals. Die Penetrationsprofile nach vorherigem Waschen des Hautareals sind in Graphik 4.37 und 4.38 zu sehen.

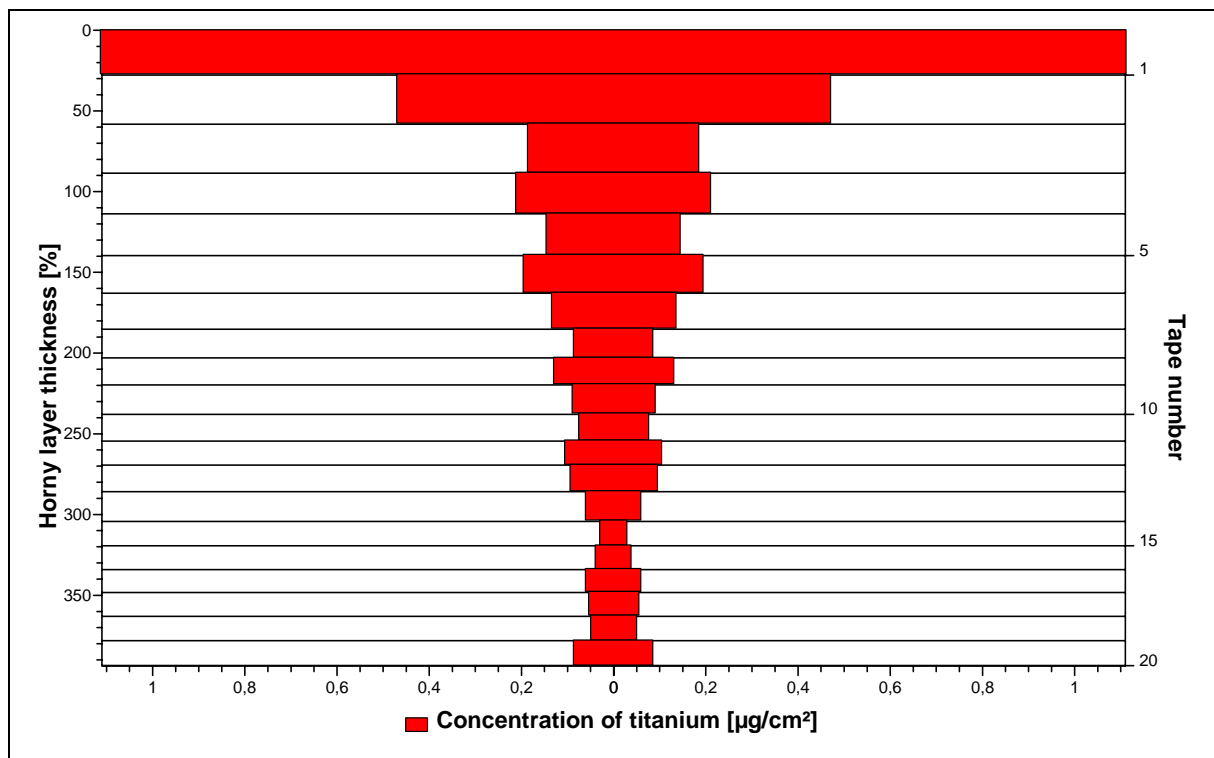


Abbildung 4.35: Penetrationsuntersuchung mit der liposomalen Formulierung  
Langzeituntersuchung ohne Waschvorgang (1. Probenserie)



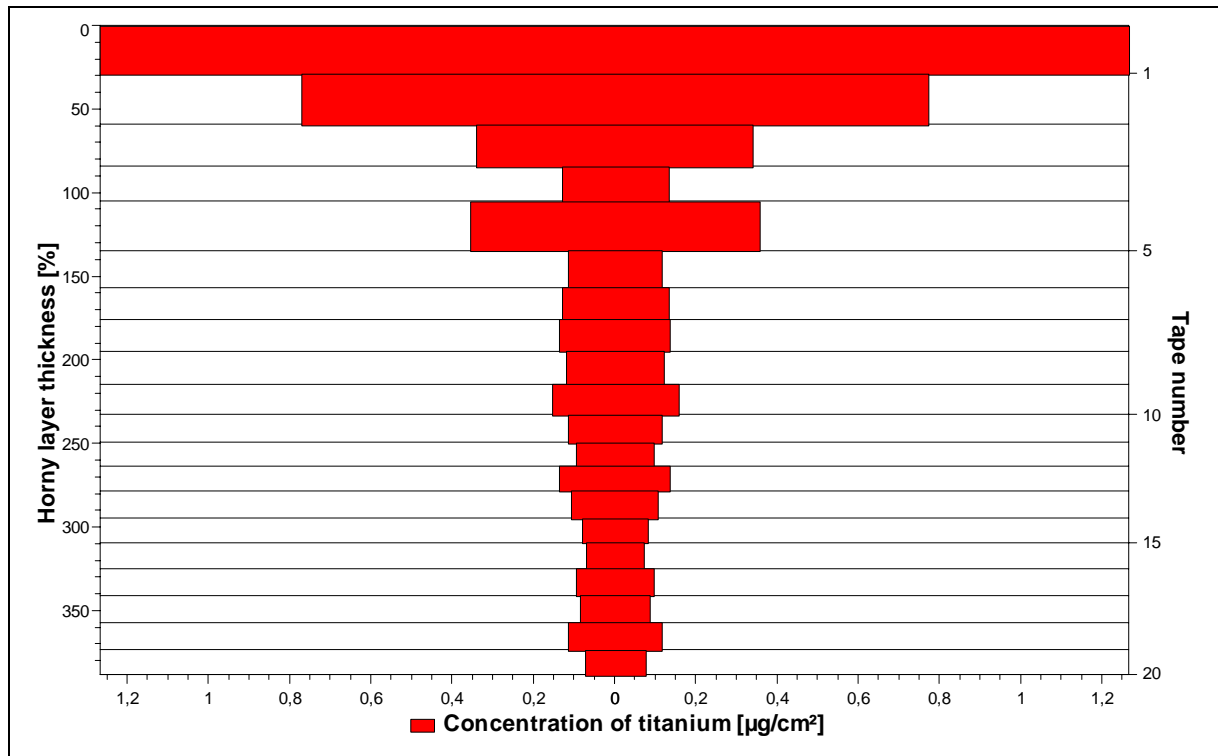


Abbildung 4.36: Penetrationsuntersuchung mit der liposomalen Formulierung  
Langzeituntersuchung ohne Waschvorgang (2. Probenserie)

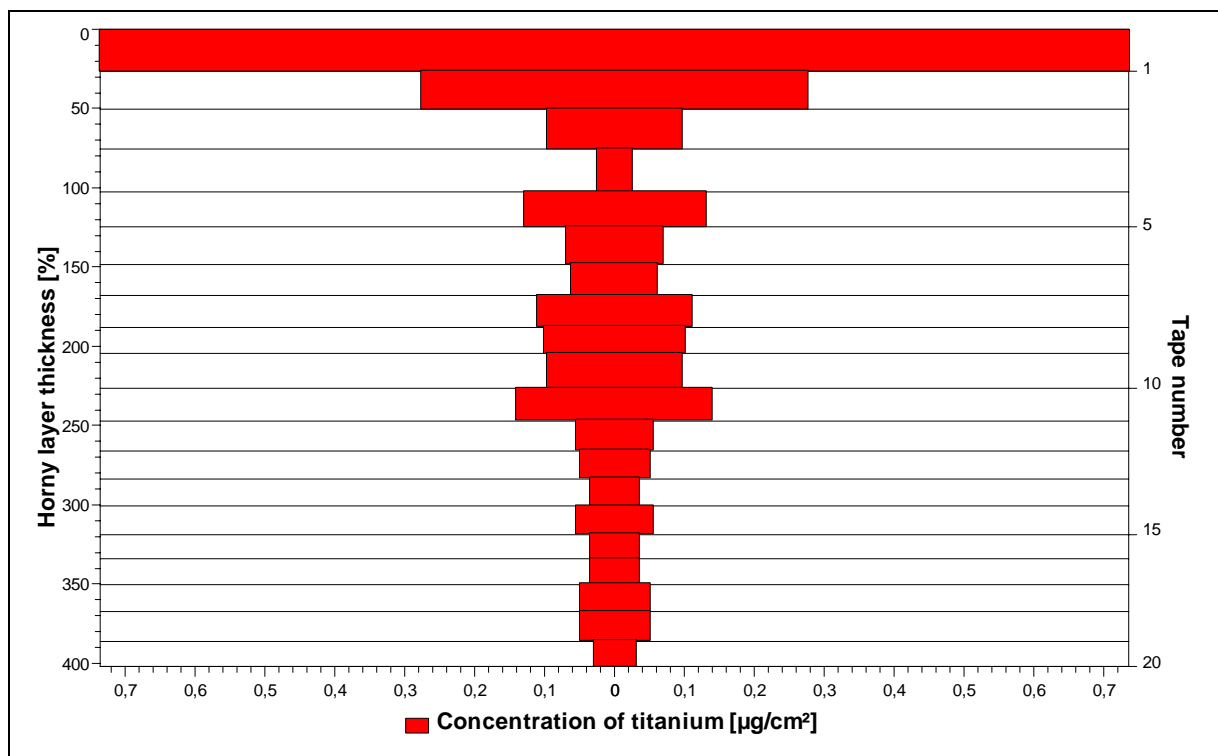


Abbildung 4.37: Penetrationsuntersuchung mit der liposomalen Formulierung  
Langzeituntersuchung nach Waschvorgang (1. Probenserie)

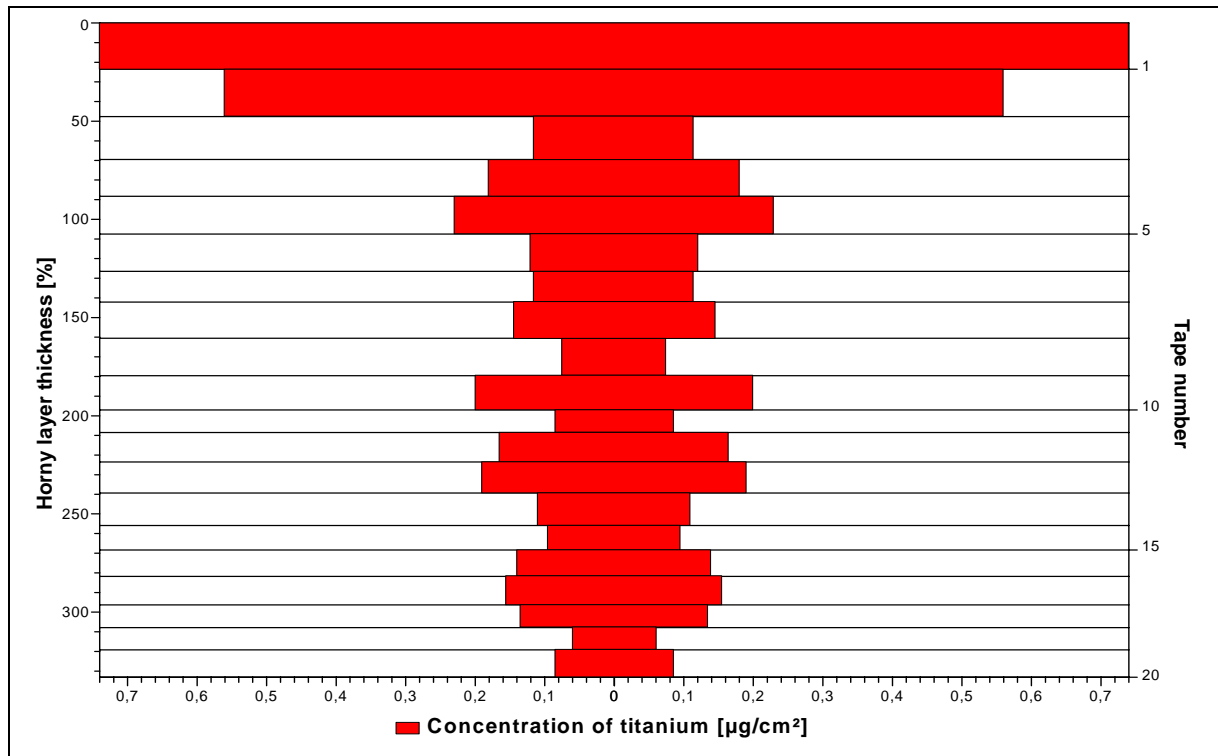


Abbildung 4.38: Penetrationsuntersuchung mit der liposomalen Formulierung  
Langzeituntersuchung nach Waschvorgang (2. Probenserie)

Nach 20 Strips ist die Menge an abgetragenen Korneozyten Aggregaten wesentlich größer als nach 10 Strips, es werden somit auch in tieferen Hautschichten befindliche Titandioxid Mikropartikel miterfaßt. Der vorgeschaltete Waschvorgang wirkt sich nicht auf die Titankonzentration der einzelnen Hautschichten aus, wie bereits bei den ersten Untersuchungen mit der liposomalen Formulierung zu erkennen war. Deutlich ist der nahezu konstante Wert der Titankonzentration ab dem 2. Strip über den gesamten abgetragenen Hautbereich zu erkennen.

#### 4.5.9.2. Penetrationsuntersuchung mit einer Eusolex® T-2000 enthaltenden liposomalen Formulierung (Langzeituntersuchung)

Der mögliche Einfluß des verwendeten Titandioxids auf das Ergebnis der Penetration soll durch die Einarbeitung des Titandioxids Eusolex® T-2000 beobachtet werden. Es handelt sich um ein amphiphiles Titandioxid welches sich in der Oberflächenbehandlung vom zuvor verwendeten Tiosorb UF01 unterscheidet. Eingearbeitet wurde Eusolex® T-2000 in die bereits zuvor untersuchte liposomale

Formulierung, die mit Tiosorb UF01 eine Penetration der Titandioxid Mikropartikel zeigte. Graphik 4.39 bzw. 4.40 zeigt die Penetrationsprofile nach einer Verweilzeit der Formulierung auf der Unterarminnenseite von 24 Stunden, ohne vorgeschalteten Waschvorgang. Graphik 4.41 bzw. 4.42 stellt die Penetrationsprofile mit vorgeschalteter Reinigung der behandelten Hautbereiche mit Wasser dar.

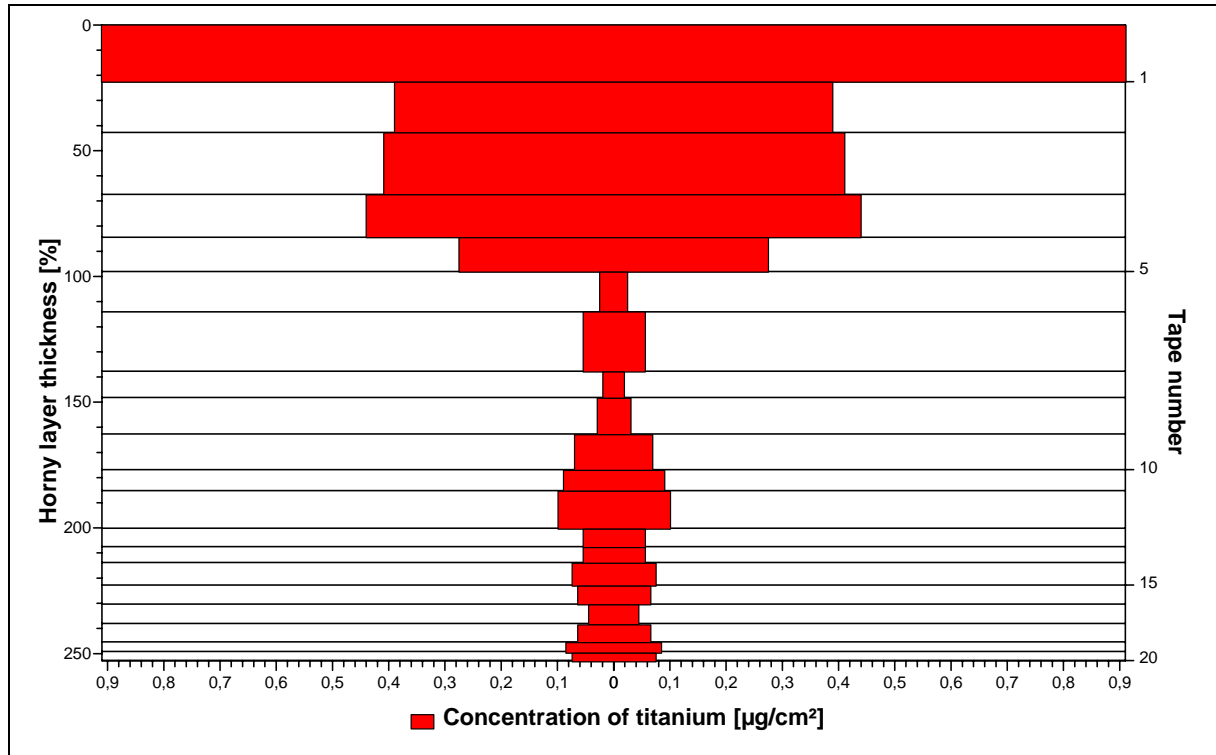


Abbildung 4.39: Penetrationsuntersuchung mit der liposomalen Formulierung  
Langzeituntersuchung ohne Waschvorgang (1. Probenserie)

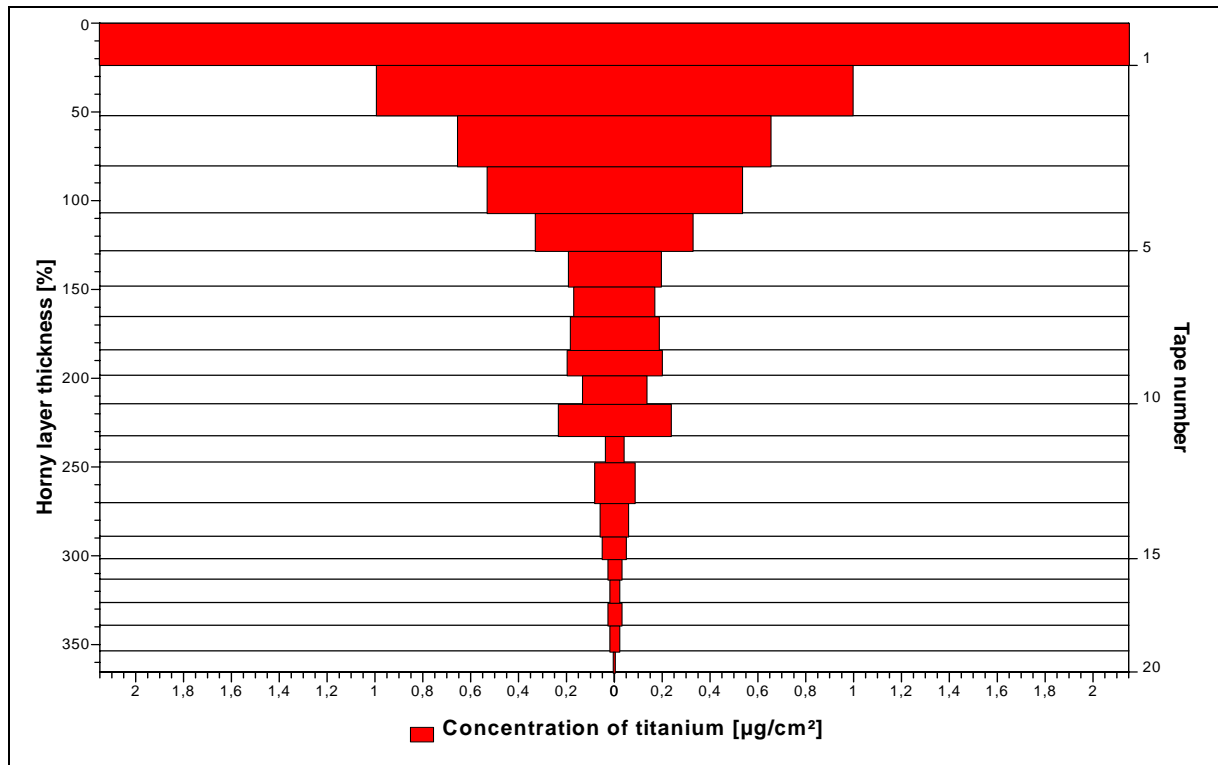


Abbildung 4.40: Penetrationsuntersuchung mit der liposomalen Formulierung  
Langzeituntersuchung ohne Waschvorgang (2. Probenserie)

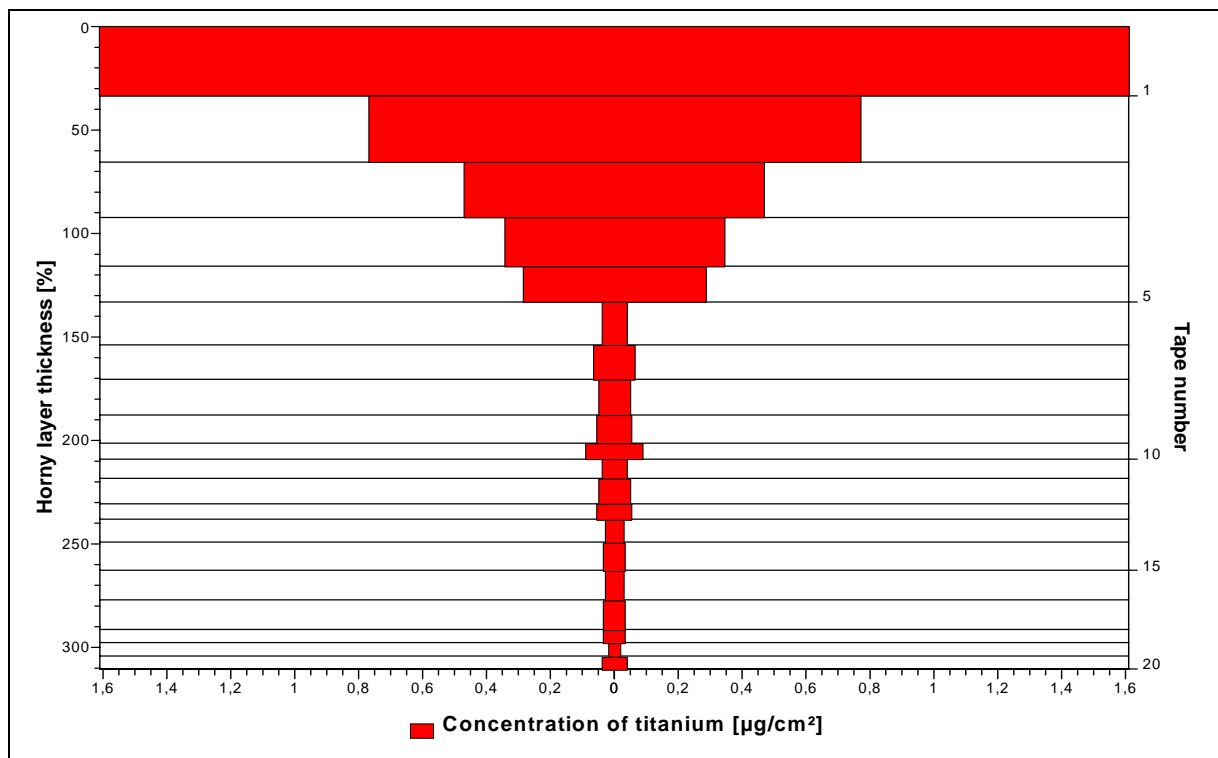


Abbildung 4.41: Penetrationsuntersuchung mit der liposomalen Formulierung  
Langzeituntersuchung nach Waschvorgang (1. Probenserie)

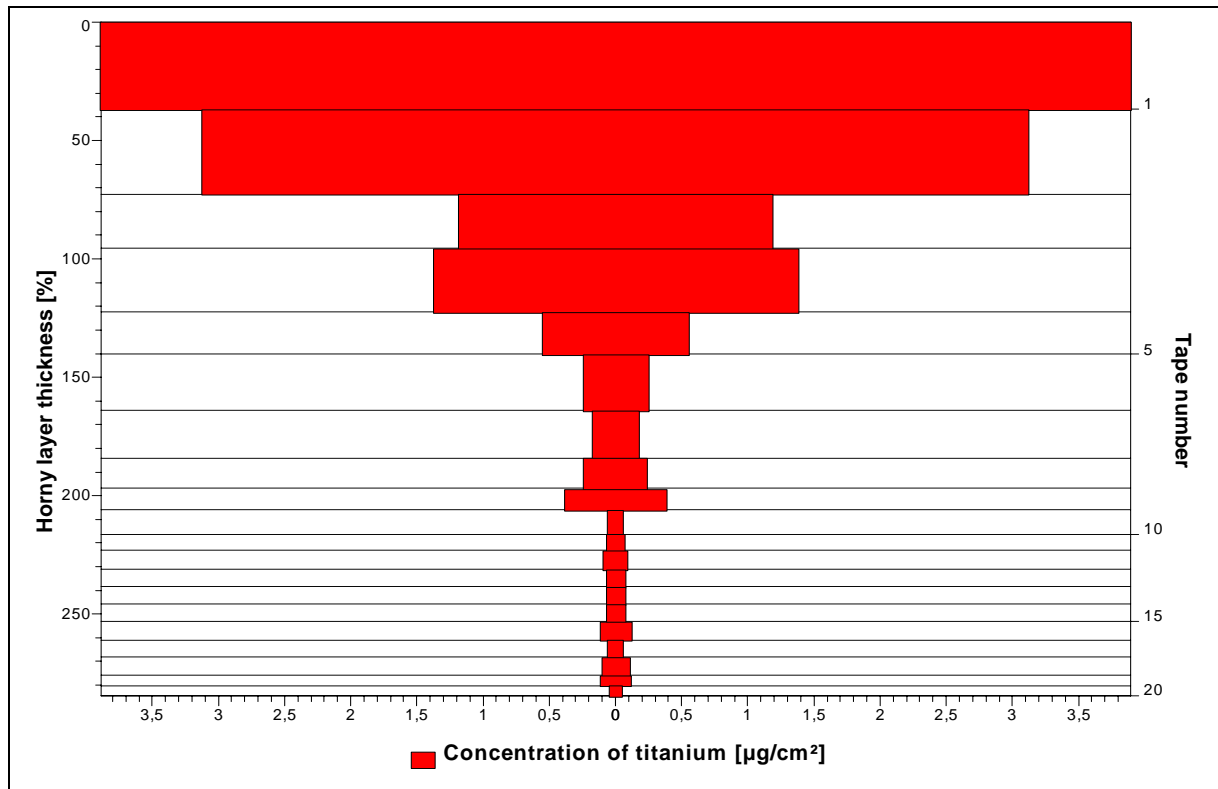


Abbildung 4.42: Penetrationsuntersuchung mit der liposomalen Formulierung  
Langzeituntersuchung nach Waschvorgang (2. Probenserie)

Bei der Betrachtung der Penetrationsergebnisse für die liposomale Formulierung mit Eusolex® T-2000 zeigt sich ein mit der Tiosorb UF01 enthaltenden liposomalen Formulierung vergleichbares Bild. Der vorgeschaltete Waschvorgang führt zu keiner Veränderung der Titankonzentration der einzeln von den Hautbereichen genommenen Strips. Unterschiede im Penetrationsverhalten in Abhängigkeit vom verwendeten Titandioxid sind nicht zu erkennen.

#### 4.5.9.3. Penetrationsuntersuchung mit einer DMSO enthaltenden mizellaren Formulierung (Langzeituntersuchung)

Der Einfluß des Einsatzes des Penetrationenhancers Dimethylsulfoxid (DMSO) auf das Ergebnis der Penetration der Titandioxid Mikropartikel soll beobachtet werden. DMSO wurde in einer Konzentration von 5% in die Grundrezeptur der mizellaren Lösung eingearbeitet.

Der Enhancereffekt der Sulfoxid Derivate, von denen vorwiegend Dimethylsulfoxid zur Anwendung kommt, kann nach Barry durch zwei Mechanismen beschrieben

werden [56]. Die Solvatationseigenschaften des DMSO führen auf der einen Seite zu einer besseren Löslichkeit von Wirkstoffen innerhalb des Stratum corneums.

Andererseits kann DMSO Wasser von den polaren Kopfgruppen der interzellulären Lipide verdrängen, wodurch der Lipidbilayer zerstört wird und es zu einer erhöhten Fluidität in diesem Bereich kommt, verbunden mit einem verringerten Diffusionswiderstand [55]. Die Erhöhung der Fluidität innerhalb der interzellulären Bereiche des Stratum corneums führt möglicherweise zu einer verstärkten interzellulären Penetration der Titandioxid Mikropartikel.

Die Ergebnisse ohne vorgeschalteten Waschvorgang des Hautbereiches sind in den Graphiken 4.43 bzw. 4.44 zu sehen. Die Graphiken 4.45 bzw. 4.46 zeigen die Penetrationsprofile nach der vorhergehenden Reinigung mit Wasser.

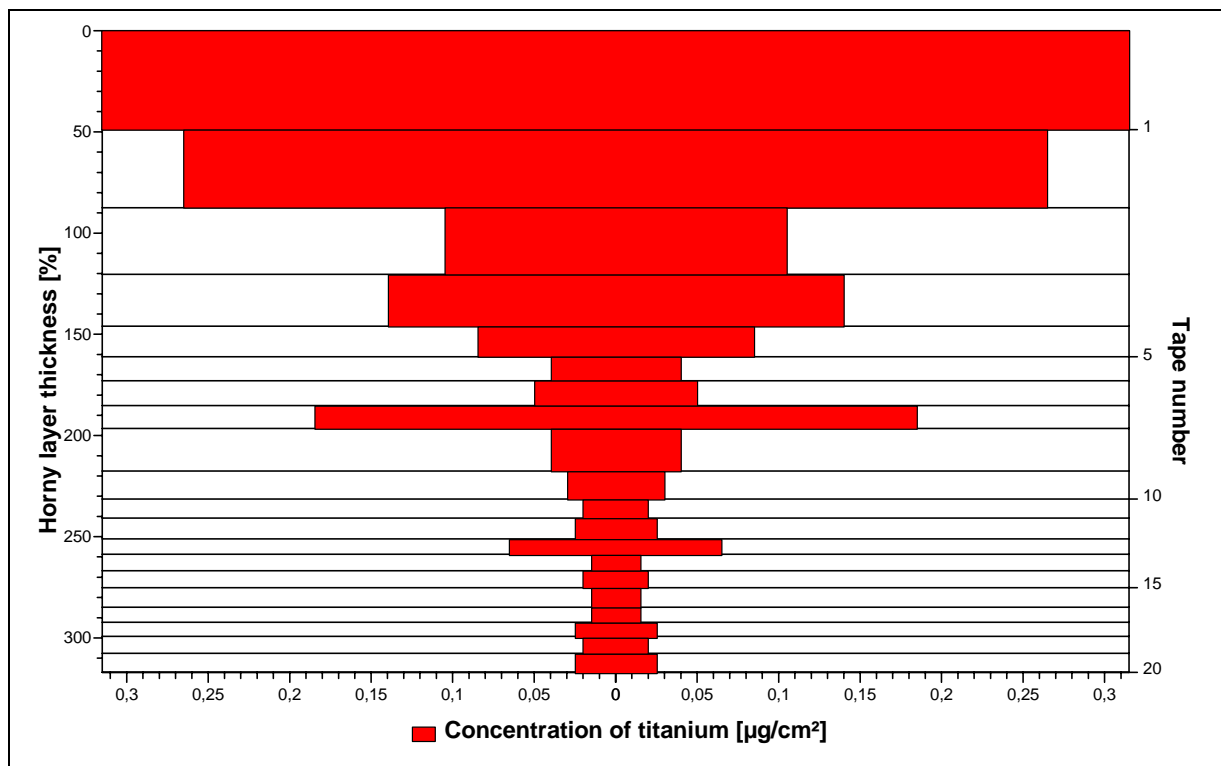


Abbildung 4.43: Penetrationsuntersuchung mit der mizellaren Formulierung (DMSO) Langzeituntersuchung ohne Waschvorgang (1. Serie)

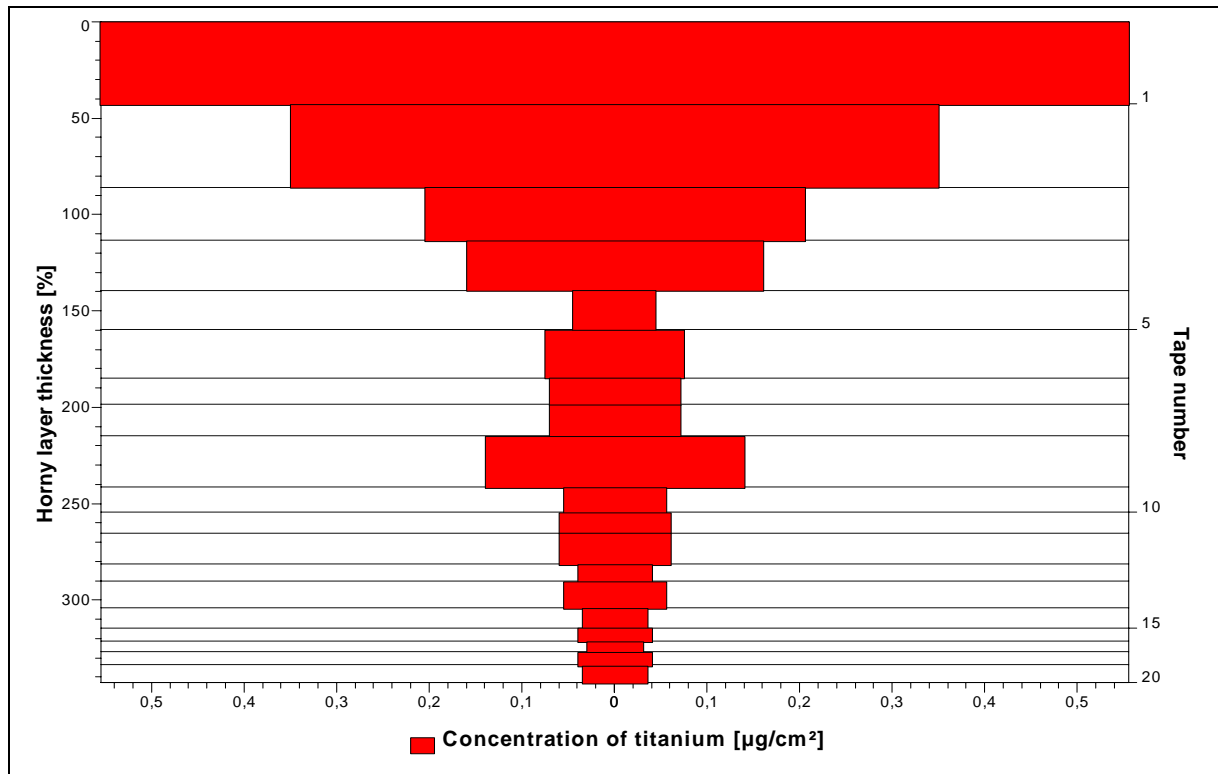


Abbildung 4.44: Penetrationsuntersuchung mit der mizellaren Formulierung (DMSO) Langzeituntersuchung ohne Waschvorgang (2. Serie)

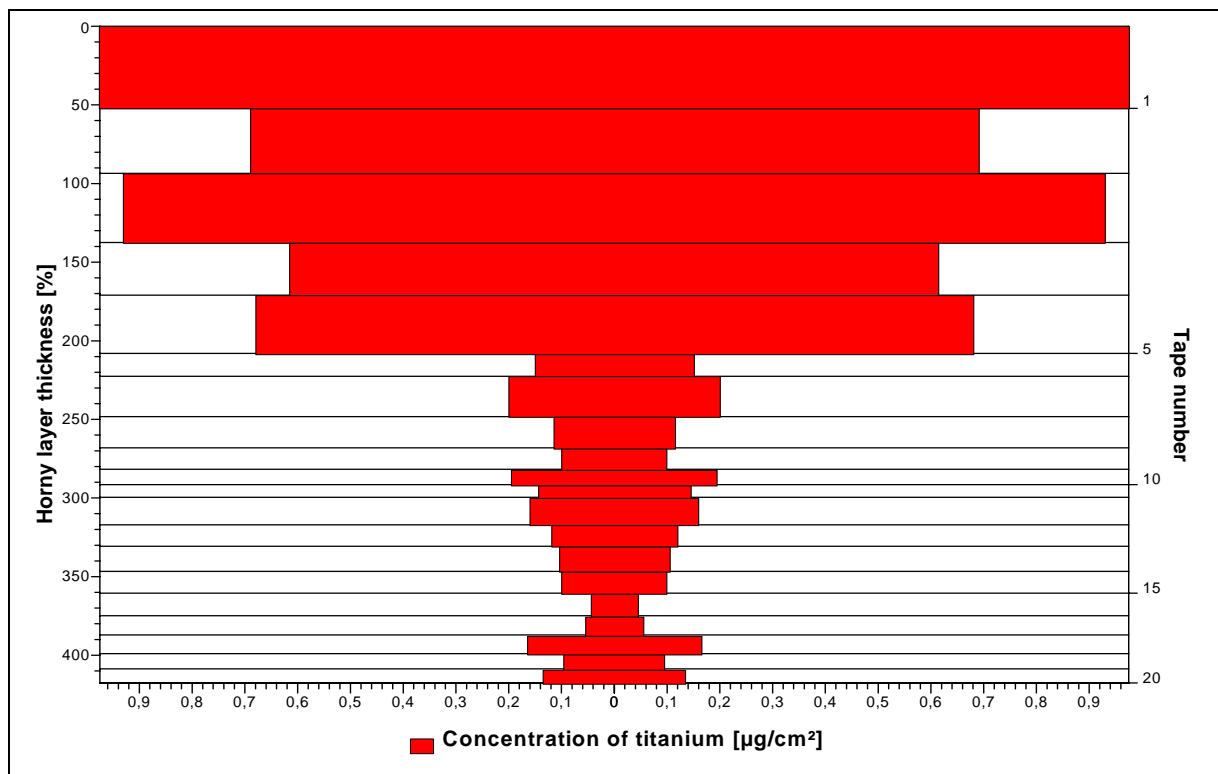


Abbildung 4.45: Penetrationsuntersuchung mit der mizellaren Formulierung (DMSO) Langzeituntersuchung nach Waschvorgang (1. Serie)

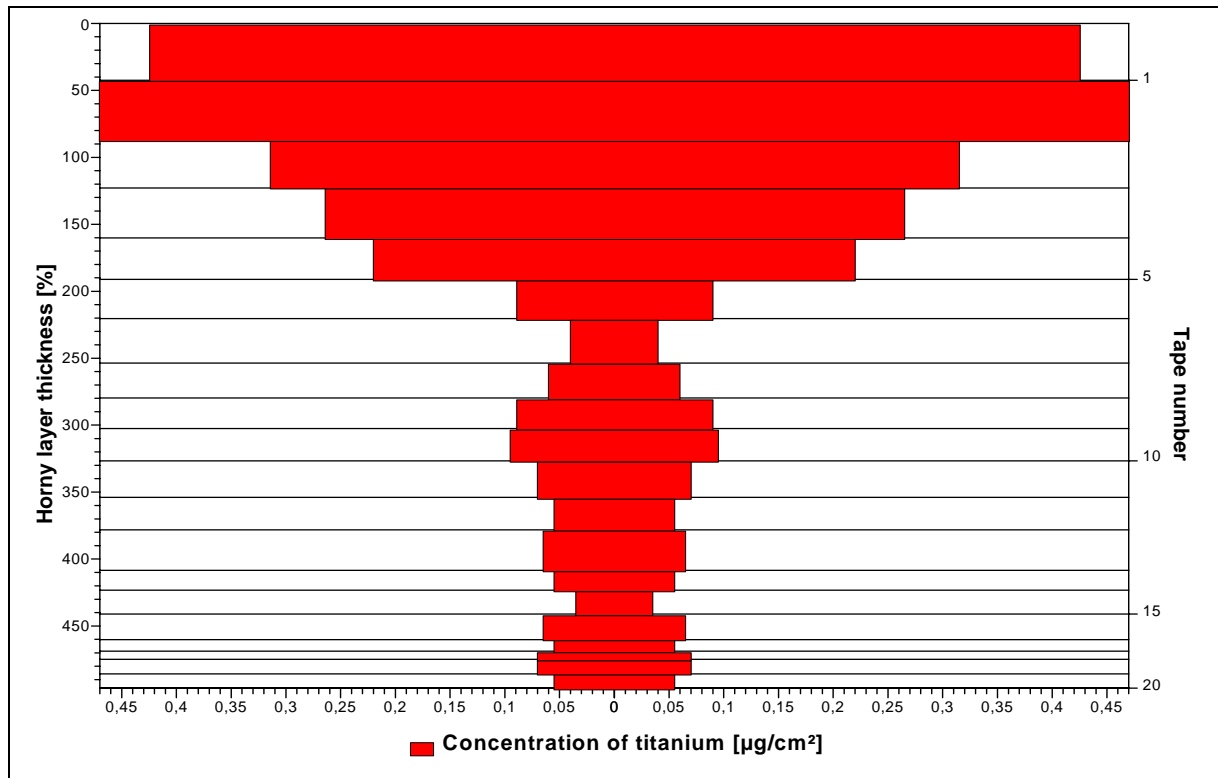


Abbildung 4.46: Penetrationsuntersuchung mit der mizellaren Formulierung (DMSO) Langzeituntersuchung nach Waschvorgang (2. Serie)

Nach Anwendung der DMSO enthaltenen mizellaren Formulierung sind auch nach einem dem Stripping vorgeschaltetem Waschvorgang auf den später genommenen Strips noch geringe Titankonzentrationen nachweisbar. In den vorhergehenden Untersuchungen mit der mizellaren Lösung war nach vorgeschalteter Reinigung des zu strippenden Hautbereiches kein Titandioxid in den tieferen Schichten des Stratum corneums zu detektieren. Der Einfluß des Penetrationenhancers auf die verringerte Barriereeigenschaft des Stratum corneums ist deutlich zu erkennen.

#### 4.5.10. Zusammenfassende Diskussion zur Penetration von mikrofeinem Titandioxid in Humanhaut

Entscheidend bei den vergleichenden Untersuchungen zur Penetration der Titandioxid Mikropartikel in Humanhaut ist nicht nur die Bestimmung des Titangehaltes der genommenen Strips, sondern ebenfalls die Erfassung der abgetragenen Menge an Korneozytenaggregaten. Die Bestimmung der Korneozytenaggregate ermöglicht eine genauere Lokalisierung der Titandioxid



Mikropartikel innerhalb des Stratum corneums. Es zeigen sich Unterschiede in der abgetragenen Korneozytenmenge in Abhängigkeit von der Nummer des Strips und der aufgetragenen Formulierung. Aufgrund des erhöhten zellulären Zusammenhaltes in tieferen Bereichen des Stratum corneums werden dort durch das Stripping weniger Korneozytenaggregate abgetragen.

Die Art der verwendeten Formulierung beeinflusst ebenfalls die Penetrationstiefe der Titandioxid Mikropartikel in die Hornhaut. Die Primärpartikelgröße von 20 nm ermöglicht eine Penetration der Titandioxid Mikropartikel über den interzellulären bzw. den transfollikulären Weg.

Auch eine Mehrfachapplikation wirkt sich in einer Erhöhung der Titankonzentration allerdings nur in den oberen Stratum corneum Bereichen aus.

Die Einarbeitung von unterschiedlichen Gelbildnern, die zur Stabilisierung der Dispersionen eingesetzt werden, wirkt sich jedoch auf die Penetration nicht aus.

Der Aufenthalt der Mikropartikel in den Falten des Stratum corneums und das damit verbundene schrittweise Entfernen der Partikel durch später genommene Strips kann eine Penetration der Partikel vortäuschen. Die vorgeschaltete Reinigung des Hautareals kann dies erkennen lassen. Ein Vergleich der Ergebnisse ohne und mit vorheriger Reinigung zeigt bei oberflächlich verbleibenden Formulierungen deutliche Unterschiede.

Bei Einarbeitung der Titandioxid Mikropartikel in eine liposomale Formulierung sind im Vergleich zu einer mizellaren Formulierung auch nach Reinigung noch Titandioxid Mikropartikel auf den genommenen Strips nachweisbar. Selbst in den tieferen Abschnitten des Stratum corneums sind bei Anwendung der liposomalen Formulierung Titandioxid Mikropartikel zu detektieren. Bei der Anwendung von Liposomenprodukten gewährleisten diese aufgrund der dauerhaften Fixierung an die Bestandteile des Stratum corneums einen zuverlässigen langdauernden Wasserschutz [9]. Dies konnte bereits im Zusammenhang mit der Anwendung von chemischen Lichtschutzfiltern beobachtet werden. Liposome transportieren die chemischen UV-Filter in die tieferen Stratum corneum Schichten, wo sie längere Zeit fixiert bleiben. Liposome stellen somit Sonnenschutzmittel mit langer Wirkdauer dar und garantieren eine hohe Wasserfestigkeit [9]. Die Berücksichtigung dieser Befunde im Zusammenhang mit Titandioxid enthaltenden liposomalen Formulierungen würde die Ergebnisse der Penetrationsuntersuchungen erklären, wenn man von der Vermutung ausgeht, daß ein Teil der Titandioxid Mikropartikel in

die Liposomen eingebettet wurde und dadurch ein Transport in tiefere Schichten des Stratum corneums stattfand. Die transmissionselektronenmikroskopischen Aufnahmen geben jedoch keinen Aufschluß über die Lokalisierung der Partikel innerhalb der Liposomen.

Bei Einarbeitung des Penetrationsenhancers DMSO in die mizellare Formulierung ist auch nach vorgeschalteter Reinigung des Hautareals Titandioxid im Stratum corneum nachweisbar. Die durch den Penetrationsenhancer verursachte Zerstörung der interzellulären Lipidbilayer führt zu einer verstärkten interzellulären Penetration der Titandioxid Mikropartikel.

#### **4.6. Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen des Stratum corneums**

##### **4.6.1. Aufnahmen der Klebefilmstreifen**

Die transmissionselektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigen Bereiche des Stratum corneums nach Auftrag der titandioxidhaltigen mizellaren Formulierung, welche einen Anteil von 5% des Titandioxids Tiosorb UF01 beinhaltet und nicht durch den Zusatz eines Gelbildners stabilisiert wurde. Bei Abbildung 4.47 handelt es sich um eine Aufnahme des 1. Strips. Deutlich sind die häufig agglomerierten Titandioxid Mikropartikel zu erkennen und ebenfalls die im Hintergrund vorhandene Struktur des Stratum corneums. Die Lipidschichten des Stratum corneums, welche sich zwischen den Korneozyten befinden, treten eindeutig als graue Netzstruktur hervor.

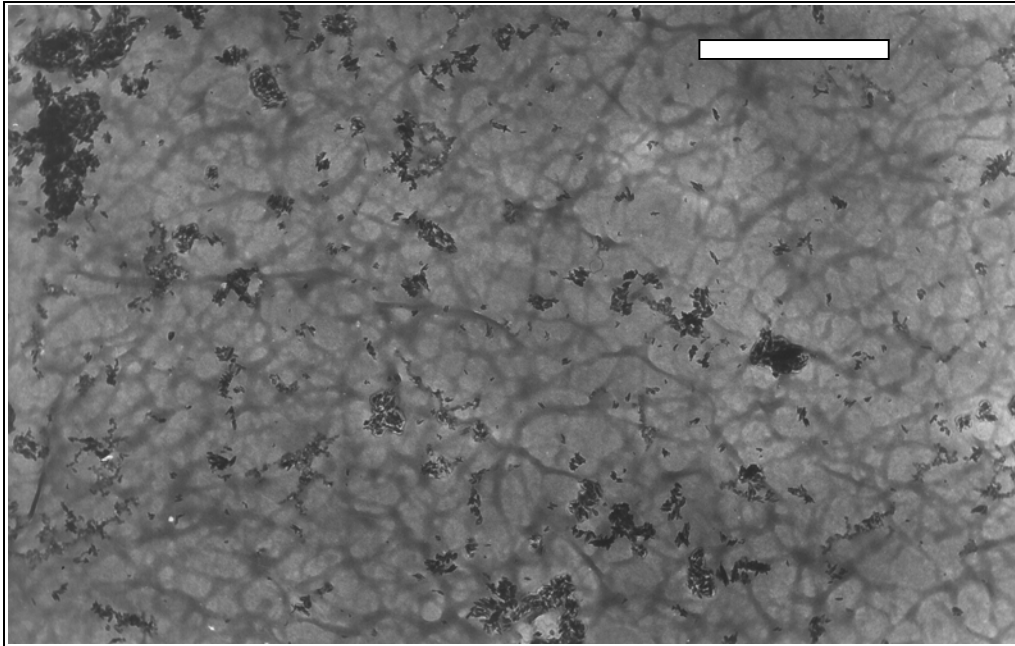


Abbildung 4.47: TEM Aufnahme eines Klebefilmstreifens (Balken entspricht 152 µm)

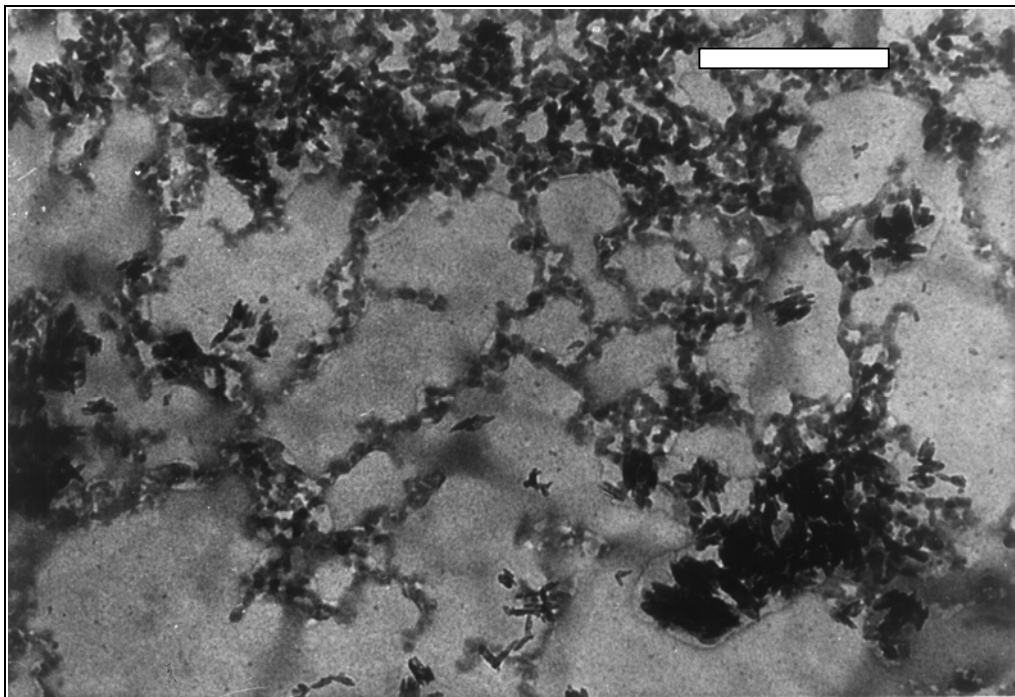


Abbildung 4.48: TEM Aufnahme eines Klebefilmstreifens (Balken entspricht 426 nm)

Abbildung 4.48 verdeutlicht die Orientierung der Titandioxid Mikropartikel nach Auftrag der Formulierung auf die Haut. Die Ausrichtung der Titandioxid Mikropartikel folgt der Struktur der Hautoberfläche, wie es in der Mitte der Abbildung zu erkennen

ist, wo sich die Mikropartikel in den Spalten um die Korneozyten aufhalten und damit deren Struktur nachbilden [99].

#### **4.6.2. Zusammenfassende Diskussion der transmissionselektronenmikroskopischen Aufnahmen des Stratum corneums**

Die Verstreichbarkeit einer Sonnenschutzformulierung auf der Haut wird maßgeblich beeinflusst durch die Formulierung, in die der partikuläre Sonnenschutz eingebracht wurde. Der nach Auftrag einer partikulären Sonnenschutzformulierung entstehende Film und die Orientierung der Partikel auf der Haut sind von entscheidender Bedeutung für den erzielten Sonnenschutz. Die Effektivität einer Sonnenschutzformulierung ist somit verknüpft mit der Qualität des eingearbeiteten partikulären Filters und der verwendeten Formulierung [46]. Mit Hilfe der Transmissionselektronenmikroskopie ist dafür eine Bewertung zugänglich.

Die Abbildungen der Klebefilmstreifen zeigen deutlich die Anreicherung der Titandioxid Mikropartikel in den die Korneozyten umgebenden Spalten. Ebenfalls zu erkennen sind die nach Auftrag der Formulierung noch vorkommenden Agglomerate von Titandioxid Mikropartikeln, welche zu einer verringerten Effektivität der aufgetragenen Sonnenschutzformulierung führen.

Die Anreicherung des partikulären Sonnenschutzes in den vorhandenen Spalten des Stratum corneums führt zu Schwierigkeiten bei der Interpretation der erhaltenen Ergebnisse der Penetrationsuntersuchungen. Bei der Durchführung eines Strippings mit Klebefilmstreifen kann auch bei der Entnahme von späteren Strips Titandioxid aus den Spalten herausgelöst werden und somit eine Penetration vortäuschen. Die bei ausgewählten Penetrationsversuchen vorgeschaltete Reinigung der Hautbereiche mit Wasser kann noch oberflächlich in Hautfalten vorhandenes Titandioxid entfernen, so daß Fehlinterpretationen minimiert werden.

## 5. Abschlußdiskussion

### 5.1. Einfluß der physikochemischen Eigenschaften der Titandioxid Mikropartikel auf das Ergebnis der Penetration in humanes Stratum corneum

Bei der Beurteilung des Eindringvermögens muß neben der Betrachtung der Größe und Form der verwendeten Titandioxid Mikropartikel ebenfalls die unterschiedlich erfolgte Oberflächenbehandlung der Partikel berücksichtigt werden. Bei dem in der Vordispersion Tioveil AQ-N verwendeten Titandioxid Tiosorb UF01 handelt es sich um hydrophil beschichtete Titandioxid Mikropartikel, im Unterschied zu den amphiphilen Titandioxid Mikropartikeln der Eusolex<sup>®</sup> Qualitäten. Verglichen mit den hydrophil beschichteten Titandioxid Mikropartikeln sollte, aufgrund der amphiphilen Beschichtung der Eusolex<sup>®</sup> Qualitäten auch eine höhere Affinität zu den Lipiden des Stratum corneums zu beobachten sein, welches in einer reduzierten Benetzbarkeit und einer damit verbundenen verbesserten Wasserfestigkeit zum Ausdruck kommen sollte. [33] Die Betrachtung der Penetrationsergebnisse der liposomalen Formulierung mit den Titandioxid Mikropartikeln Tiosorb UF01 und Eusolex<sup>®</sup> T-2000 zeigte jedoch keine deutlichen Unterschiede in den Penetrationsprofilen. Auswirkungen auf die Penetration hat jedoch die Art der verwendeten Formulierung, welches in einem späteren Kapitel diskutiert wird.

Die transmissionselektronenmikroskopisch beobachteten nadelförmigen Kristalle der Titandioxid Mikropartikeln neigen auf Grund der großen Anzahl der Kontaktflächen zur Agglomeration, welche durch eine Oberflächenbeschichtung zurückgedrängt werden soll. Daß sich die Oberflächenbeschichtungen der verschiedenen Titandioxid Mikropartikel unterscheiden, wird bei Betrachtung der Ergebnisse des Gesamtporenvolumens erkennbar. Eine Agglomeration der Partikel führt zu einer verringerten photoprotektiven Wirkung der auf der Haut aufgetragenen Lichtschutzformulierung [45]. Verbunden mit der Agglomeration ist ebenfalls ein verstärkt auftretender Weißeleffekt [7]. Eine interzelluläre Penetration der Partikel sollte durch Bildung größerer Agglomerate ebenfalls erschwert sein. Trotz der unterschiedlichen Oberflächenbeschichtungen der untersuchten Titandioxid Mikropartikel konnten bei den transmissionselektronenmikroskopischen Aufnahmen der liposomalen Formulierungen, welche Tiosorb UF01 oder Eusolex<sup>®</sup> T-2000

enthielten, keine Unterschiede in der Größe und Anzahl der auftretenden Agglomerate beobachtet werden.

## **5.2. Galenische Stabilisierung der Titandioxid Mikropartikel**

Durch die galenische Stabilisierung soll ein Absinken der Mikropartikel verzögert und ihre homogene Verteilung aufrecht erhalten werden. Der Einsatz von unterschiedlichen Konzentrationen der Gelbildner Aerosil® 200 und Hydroxypropylmethylcellulose führt, wie bei der Betrachtung der Viskogramme zu erkennen, zu einer erhöhten Viskosität der untersuchten Formulierung und verzögert so das Absinken der Partikel. Die Ermittlung einer minimal erforderlichen Konzentration des Gelbildners mit Hilfe der rheologischen Untersuchung der Formulierungen war nicht möglich. Eine zu hohe Konzentration der Gelbildner schränkt die Streichfähigkeit der Formulierung ein und würde damit zu einer verminderten kosmetischen Akzeptanz der Lichtschutzformulierung führen. Die beobachtete Steigerung des Lichtschuttfaktors bei Erhöhung der Hydroxypropylmethylcellulose Konzentration kann jedoch mit einer ausreichenden Stabilisierung der homogenen Verteilung der Titandioxid Mikropartikel erklärt werden. Bei Verwendung der Liposomenformulierung ist eine Fixierung der Mikropartikel zwischen den vorhandenen Vesikeln möglich, wodurch eine Agglomeration der Mikropartikel verhindert werden kann. Eine Anwendung der Liposomenformulierung ist jedoch kritisch zu bewerten, da Lageruntersuchungen von Bennat eine schnellere Zersetzung des Phospholipids bei einer Lagertemperatur von 40° C im Vergleich zu gekühlten Proben zeigten [13]. Die autoxidative Zersetzung des Lecithins ging einher mit einer Fusion der Liposomen. Die Liposomenformulierung stellt insofern eine ungeeignete Sonnenschutzformulierung dar, als besonders bei hohen Temperaturen eine schnelle Zersetzung des Lecithins stattfand, welches durch die Anwesenheit der Titandioxid Mikropartikel noch beschleunigt wurde [13].

### **5.3. Darstellung ausgewählter Ergebnisse des Instituts für Experimentelle Physik II der Universität Leipzig**

Im folgenden werden ausgewählte Ergebnisse einer Zusammenarbeit mit dem Institut für Experimentelle Physik II der Universität Leipzig vorgestellt, welche im Rahmen der Diplomarbeit von Herrn Frank Menzel unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. habil. Butz angefertigt wurden [88]. Zur Untersuchung der Penetration der Titandioxid Mikropartikel wurden die bereits erwähnten Formulierungen verwendet, Eucerin® Micropigment Creme, Liposomenformulierung und mizellare Formulierung, die bereits einer Penetrationsuntersuchung in humanes Stratum corneum mit Hilfe der Stripping Methode unterzogen wurden.

Bei den in-vivo Untersuchungen in Leipzig wurden die Formulierungen auf rasierte und gereinigte Hautbereiche im Rückenbereich von Schweinen aufgetragen. Bei den Schweinen handelte es sich um 3 Monate alte Tiere der deutschen Landrasse.

Schweinehaut wird auf Grund seiner strukturellen, funktionellen und biochemischen Gemeinsamkeiten mit der Humanhaut oft als deren Modell verwendet. Die Gemeinsamkeiten sind besonders für den dermalen bzw. epidermalen Bereich zu beobachten. Deutlich wird dies unter anderem in einer zur humanen Haut vergleichbaren Erneuerungsrate der Epidermis von 28 Tagen [100].

Der vergleichbare anatomische Aufbau der Schweinehaut mit der humanen Haut wird durch Abbildung 5.1 verdeutlicht, die freundlicherweise von Herrn Menzel zur Verfügung gestellt wurde.

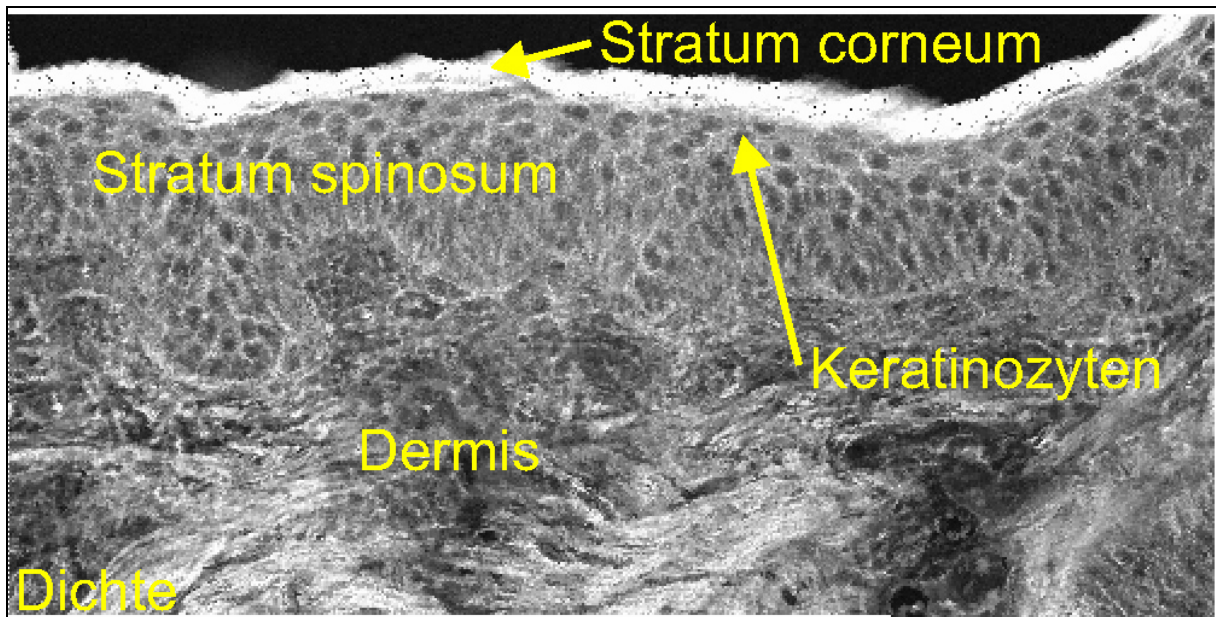


Abbildung 5.1: STIM Aufnahme der Schweinehaut (Bildgröße 409  $\mu\text{m}$  x 199  $\mu\text{m}$ )

Bei der oben dargestellten Abbildung wurde die STIM Methode (Scanning Transmission Ion Microscopy) angewendet, es handelt sich dabei um eine transmissionsionenmikroskopische Methode, bei der die Energie der die Probe passierenden Ionen detektiert wird.

Eine Differenzierung der unterschiedlichen Schichten der Schweinehaut ist auf Grund der detektierbaren Dichteunterschiede möglich. Die helleren Bereiche der Abbildung charakterisieren Gebiete höherer Dichte, wie im oberen Bereich der Epidermis zu erkennen ist. Der Bereich des Stratum corneums ist ein Gebiet höherer Dichte, verursacht durch die abgestorbenen und komprimierten Zellen dieses Bereiches.

Zur genaueren Lokalisierung der Titandioxid Mikropartikel innerhalb der Schweinehaut ist neben der Detektion des Titans auch die gleichzeitige Erkennung weiterer Elemente erforderlich. Die Detektion dieser Elemente ermöglicht eine genauere Zuordnung der einzelnen Schichten auf Grund der unterschiedlichen Elementkonzentrationen dieser Schichten. Die Abbildungen 5.2, 5.3 und 5.4 zeigen PIXE Aufnahmen für die Elemente Schwefel, Chlor und Phosphor.



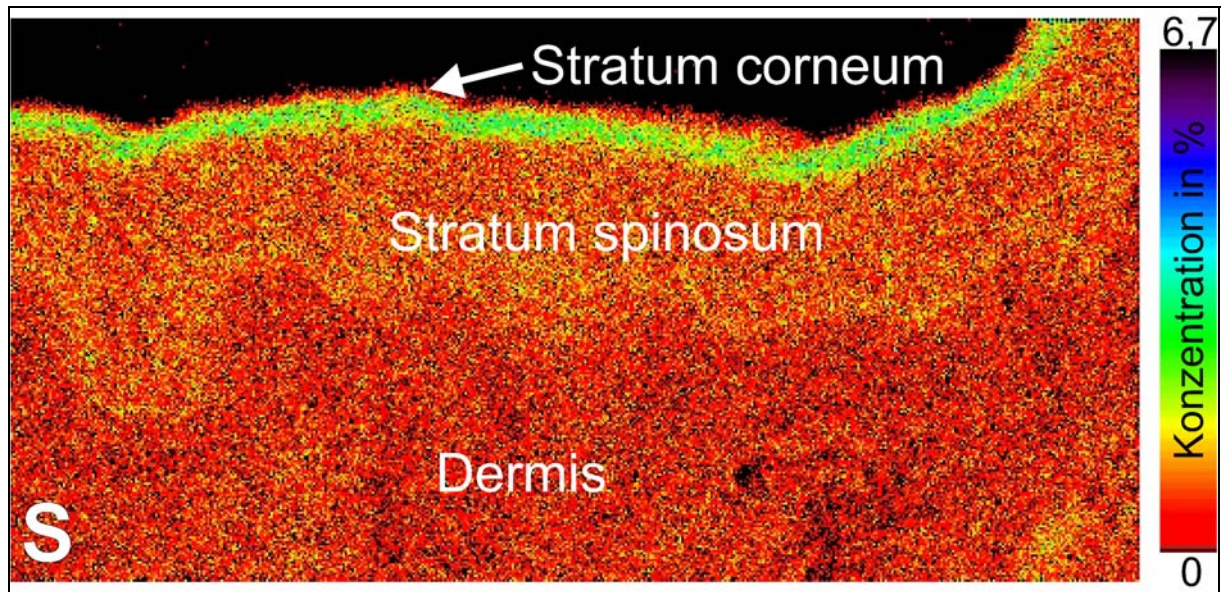


Abbildung 5.2: PIXE Aufnahme mit Bestimmung der Schwefel Verteilung innerhalb der Schweinehaut (Bildgröße 400  $\mu\text{m}$  x 190  $\mu\text{m}$ )

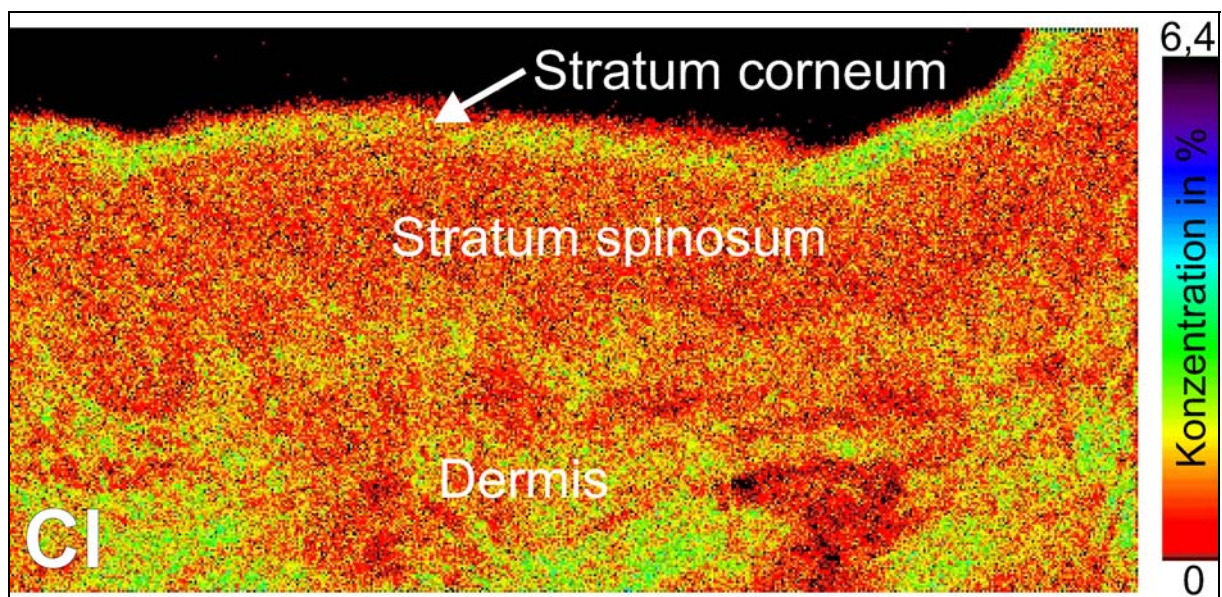


Abbildung 5.3: PIXE Aufnahme mit Bestimmung der Chlor Verteilung innerhalb der Schweinehaut (Bildgröße 400  $\mu\text{m}$  x 190  $\mu\text{m}$ )



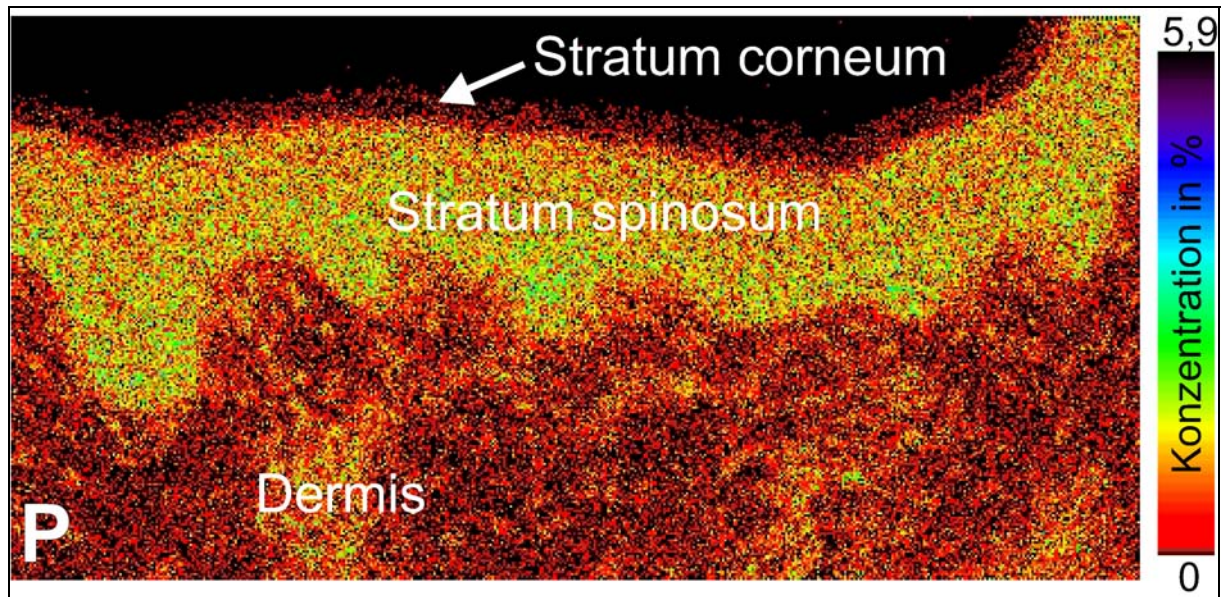


Abbildung 5.4: PIXE Aufnahme mit Bestimmung der Phosphor Verteilung innerhalb der Schweinehaut (Bildgröße 400  $\mu\text{m}$  x 190  $\mu\text{m}$ )

Die mit der PIXE Methode erzielten Aufnahmen, die dankenswerterweise ebenfalls von Herrn Menzel zur Verfügung gestellt wurden, ermöglichen eine eindeutige Zuordnung der einzelnen Hautbereiche. Das Stratum corneum ist durch den hohen Gehalt an Schwefel und Chlor gekennzeichnet. Bei der Betrachtung der Schwefel Verteilung scheint noch eine weitere Differenzierung des Stratum corneums in das oberflächlich liegende Stratum disjunctum und das darunter liegende Stratum conjunctum mit der höheren Schwefel Konzentration möglich. Das Stratum granulosum, welches sich unterhalb des Stratum corneums befindet und einen hohen Phosphorgehalt aufweisen soll, ist nicht eindeutig zu unterscheiden, weshalb wohl auch Herr Menzel auf eine Markierung des Stratum granulosums verzichtet hat. Das Stratum spinosum weist eine im Vergleich zum Stratum corneum verringerte Schwefelkonzentration auf, wodurch eine Abtrennung zum Stratum corneum möglich wird. Die einzellige Schicht des Stratum basale ist nicht zu identifizieren, jedoch ist eine eindeutige Abgrenzung zur Dermis erkennbar.

Die nach Auftrag der unterschiedlichen Formulierungen erhaltenen Aufnahmen der PIXE Messungen sind im Folgenden dargestellt. Abbildung 5.5 verknüpft die Ergebnisse für die Elementverteilung innerhalb der Hautprobe für die Elemente Phosphor, Titan und Schwefel. Es ist die Elementverteilung erkennbar nach Auftrag der Eucerin® Micropigment Creme und einer Verweilzeit der Formulierung auf der

Haut von 8 h. Die betrachtete Hautprobe ist identisch mit der Hautprobe, welche für die Elementverteilung innerhalb der Schweinehaut herangezogen wurde, dies ist durch den gleichen Verlauf der Abgrenzung zwischen der Epidermis und der Dermis erkennbar.

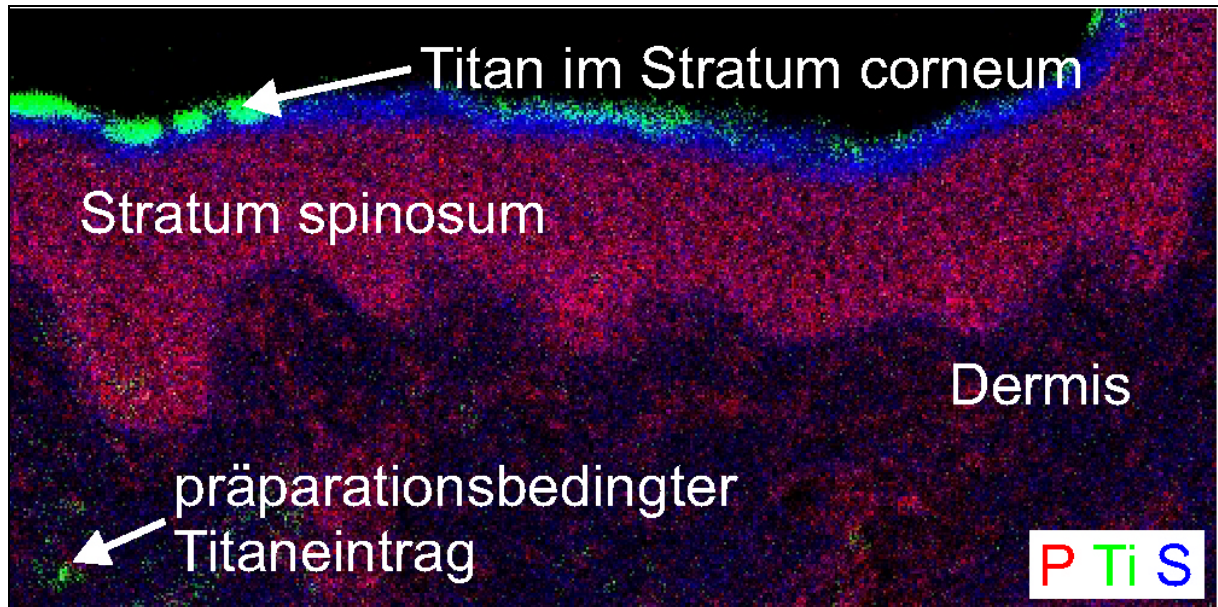


Abbildung 5.5: Elementverteilung von Phosphor (rot), Titan (grün) und Schwefel (blau) nach Auftrag der Eucerin® Micropigment Creme (Verweilzeit 8 h) (Bildgröße 400 µm x 190 µm)

Das Titan ist vorwiegend im Stratum corneum bzw. an der Hautoberfläche lokalisiert. Eine Penetration des Titans bis in das Stratum granulosum ist nicht zu erkennen. Das Titan, welches in der Dermis detektiert wurde, ist auf einen präparationsbedingten Eintrag zurückzuführen.

Nach Auftrag der mizellaren Formulierung ergab sich folgendes Bild der Titan Verteilung, wie es in Abbildung 5.6 zu sehen ist.



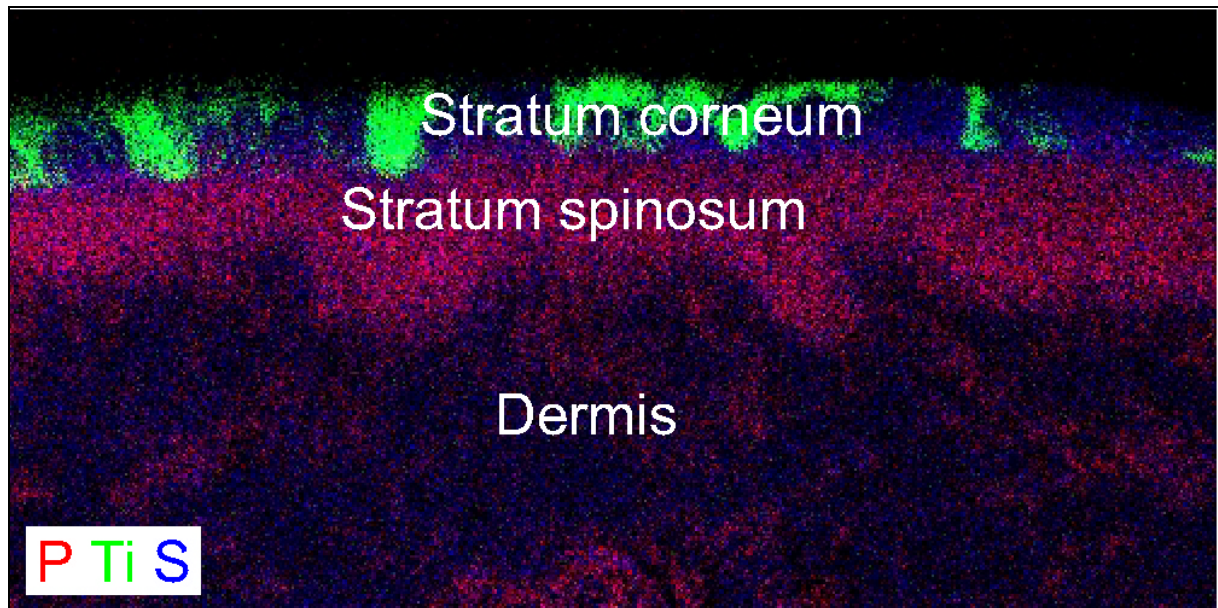


Abbildung 5.6: Elementverteilung von Phosphor (rot), Titan (grün) und Schwefel (blau) nach Auftrag der mizellaren Formulierung (Verweilzeit 8 h) (Bildgröße 400  $\mu\text{m}$  x 203  $\mu\text{m}$ )

Es zeigt sich nach Auftrag der mizellaren Formulierung ein breiteres Band der Titanverteilung, welches homogen das Stratum corneum durchzieht, jedoch nicht das Stratum spinosum erreicht. Selbst nach einer Einwirkzeit der Formulierung von 24 h auf der Haut zeigte sich keine Penetration bis in das Stratum spinosum. Auffällig im Vergleich zu Abbildung 5.5 ist das veränderte Verhältnis der Dicke des Stratum corneums zum Stratum spinosum. Abbildung 5.5 zeigt eine verringerte Schichtdicke des Stratum corneums im Vergleich zu Abbildung 5.6, wohingegen das Stratum spinosum im Vergleich zu Abbildung 5.6 eine größere Schichtdicke aufweist. In Abbildung 5.6 ist eine Penetration des Titans bis in eine Tiefe von 25  $\mu\text{m}$  der Epidermis zu erkennen. Bei einer Dicke des porcinen Stratum corneums von 15  $\mu\text{m}$  [102] ist bei einer Eindringtiefe des Titans von 25  $\mu\text{m}$  von einer Penetration bis in Bereiche des Stratum granulosums auszugehen.

Nach Anwendung der liposomalen Formulierung resultierten Schwierigkeiten bei der Erkennung der einzelnen Hautschichten. Die nach Auftrag der Liposomenformulierung stark erhöhte Konzentration an Phosphor, verursacht durch das in der Liposomenformulierung enthaltene Phospholipid, führte zu einer Überdeckung der natürlichen Phosphorkonzentrationen, welche zur Identifizierung

des Stratum spinosums genutzt wurde. Abbildung 5.7 zeigt die Elementverteilung nach Auftrag der Liposomenformulierung und einer Verweilzeit auf der Haut von 8 h.

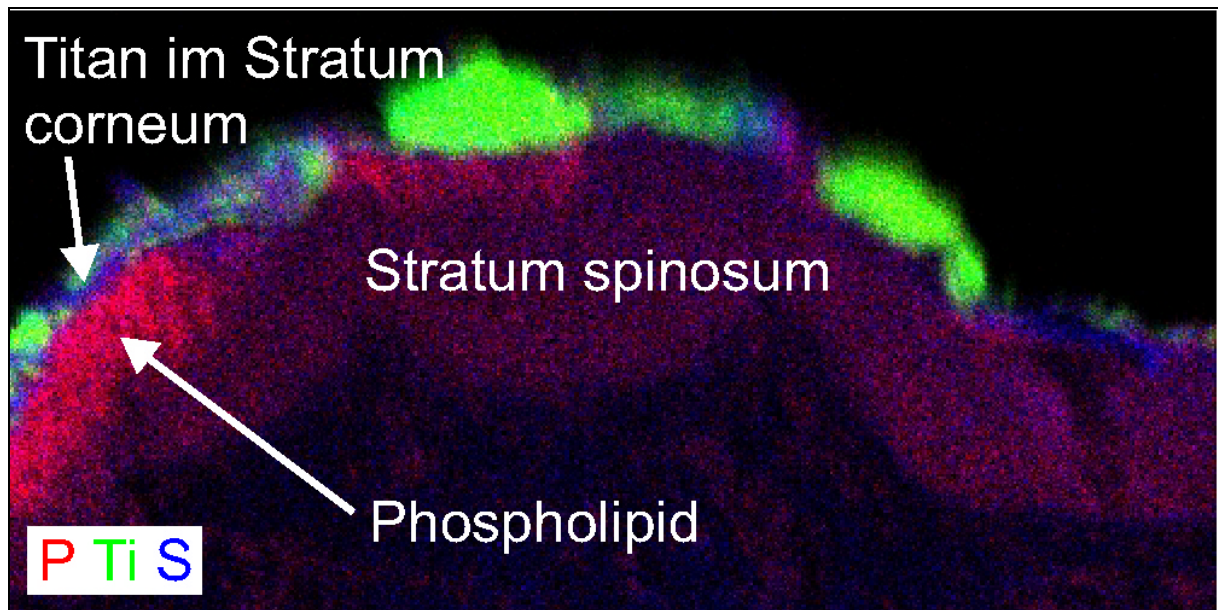


Abbildung 5.7: Elementverteilung von Phosphor (rot), Titan (grün) und Schwefel (blau) nach Auftrag der Liposomenformulierung (Verweilzeit 8 h) (Bildgröße 406 µm x 216 µm)

Wie bereits bei den Ergebnissen nach Auftrag der Eucerin® Micropigment Creme und der mizellaren Formulierung ist auch nach Auftrag der Liposomenformulierung das Titan in den Bereichen des Stratum corneums zu detektieren. Die nach Anwendung der Liposomenformulierung beobachtete Penetrationstiefe des Titandioxids läßt auf eine Penetration bis in Bereiche des Stratum granulosums schließen.

Bei allen untersuchten Formulierungen ist eine Penetration des Titandioxids bis in tiefliegende Bereiche des Stratum corneums festzustellen. Nach Anwendung der mizellaren Formulierung und der liposomalen Formulierung ist auf Grund der detektierten Penetrationstiefe von einer Penetration des Titandioxids bis in Bereiche des Stratum granulosums auszugehen. Die Möglichkeit einer transfollikulären Penetration ist in Abbildung 5.6 angedeutet, indem eine erhöhte Konzentration an Titandioxid wie ein dünner Balken im rechten Bildausschnitt das Stratum corneum durchzieht. Beim Vorliegen einer transfollikulären Penetration sollte Titandioxid jedoch auch im Stratum spinosum zu erkennen sein. Die scharfe Abgrenzung in der

Titandioxidkonzentration beim Übergang zum Stratum spinosum spricht gegen die transfollikuläre Penetration der Titandioxid Mikropartikel.

Auffällig ist die verstärkte Penetration der Phospholipide bei Anwendung der Liposomenformulierung bis in Bereiche des Stratum spinosums, ein damit einhergehender Transport von Titandioxid ist jedoch nicht zu detektieren.

Nach Applikation der mizellaren Formulierung ist eine homogene Verteilung der Titandioxid Mikropartikel innerhalb des Stratum corneums zu beobachten [88].

Unter Berücksichtigung der in Kooperation erhaltenden Ergebnisse werden im folgenden Kapitel die humanen in-vivo Penetrationsergebnisse diskutiert, bei denen sowohl der schichtweise Abtrag der Korneozyten als auch die atomabsorptionsspektrometrische Bestimmung des Titans berücksichtigt wurden.

#### **5.4. Einfluß der unterschiedlichen Formulierungen auf das Penetrationsverhalten der Titandioxid Mikropartikel**

Neben den physikochemischen Eigenschaften der Titandioxid Mikropartikel, wie Partikelgröße und Oberflächenbehandlung, wird die Penetration unter anderem beeinflusst durch den Hautzustand und die Eigenschaften der Grundlage [55]. Der Einfluß der verwendeten Formulierungen wird anhand der vorgelegten Penetrationsergebnisse deutlich. Bei Anwendung von Formulierungen auf Basis mizellarer Lösungen sind nur geringe Unterschiede in der Penetration der Mikropartikel durch die Einarbeitung der viskositätserhöhenden Substanzen HPMC und Aerosil® zu erkennen. Der erhöhte Anteil an Titandioxid in den oberen Strips nach Anwendung der mit HPMC galenisch stabilisierten mizellaren Formulierung kann durch die Bildung eines Polymerfilms auf der Hautoberfläche und eine damit nach Abdunsten des Wasseranteils verbundene Fixierung der Mikropartikel auf der Hautoberfläche bedingt sein.

Deutlich sind die Einflüsse der Formulierung auf die Penetration bei Betrachtung der Stripping Ergebnisse nach vorgeschalteter Reinigung der Hautbereiche zu erkennen. Die beobachtete Wasserfestigkeit der Liposomenformulierung und der DMSO enthaltenden Formulierung deutet auf eine verstärkte Penetration der Mikropartikel als Grund für die Wasserbeständigkeit hin. Bei der Liposomenformulierung ist zusätzlich noch der Aspekt der Fixierung an die Lipide des Stratum corneums zu berücksichtigen.

Mit Hilfe der transmissionselektronenmikroskopischen Aufnahmen ist eine Visualisierung der Titandioxid Mikropartikel auf den abgetrennten Hautschichten möglich. Wie in der Literatur beschrieben, konnten nach Auftrag der titandioxidhaltigen Sonnenschutzformulierung die mikrofeinen Titandioxidpartikel auf den äußeren Bereichen des Stratum corneums identifiziert werden, angereichert um die abschilfernden Korneozyten herum in den interzellulären Bereichen [77].

Im Zusammenhang mit den humanen in-vivo Penetrationsuntersuchungen sind ergänzend ebenfalls die Penetrationsuntersuchungen des Instituts für Experimentelle Physik II der Universität Leipzig zu sehen.

Die Projektion der Ergebnisse mit Schweinehaut auf die Humanhaut ist auf Grund vorhandener struktureller Unterschiede nur bedingt durchführbar. Gemäß den transmissionselektronenmikroskopischen Aufnahmen beträgt die Dicke des Stratum corneums des Schweines ca. 15 µm. Die Dicke des humanen Stratum corneums beträgt im Vergleich dazu jedoch nur ca. 10 µm [101]. Gemeinsamkeiten zwischen der humanen und porcinen Haut existieren besonders im Bereich der lebenden Epidermis. Neben dem vergleichbaren anatomischen Aufbau laufen ebenfalls ähnliche stoffwechselphysiologische Vorgänge ab, die die Schweinehaut als Struktur- und Funktionsmodell für die humane Haut qualifizieren [102].

Bei den Untersuchungen mit Schweinehaut kann im Gegensatz zu den humanen in-vivo Penetrationsuntersuchungen mit der Stripping-Methode der gesamte Bereich der Epidermis und Dermis betrachtet werden. Die Ergebnisse zeigen eine Penetration von Titandioxid Mikropartikeln bis in Bereiche des Stratum granulosums der Schweinehaut.

Die bei der Anwendung der Liposomenformulierung beobachtete verstärkte Penetration der Phospholipide bis in Bereiche des Stratum spinosums ist nicht verknüpft mit einer Penetration der Titandioxid Mikropartikel in diese Bereiche. Eine Penetration der Mikropartikel hätte vermutet werden können, falls ein Teil der Mikropartikel in die Liposomen eingebettet wäre. Jedoch kann die Penetration der Liposomen ebenfalls verbunden sein mit einem Verlust der strukturellen Integrität der Liposomen, wodurch es zu einer Freisetzung bereits eingebetteter Titandioxid Mikropartikel kommt.

## 6. Zusammenfassung

Der physikalische Lichtschutz beruht auf der Anwendung von partikulären Lichtschutzfiltersubstanzen wie Titandioxid und Zinkoxid. Er ist auf Grund seiner zum chemischen Lichtschutz unterschiedlichen Wirkungsweise als Alternative oder Ergänzung zu diesem zu sehen.

Die Verringerung der Primärpartikelgröße der partikulären Lichtschutzfilter führt zu veränderten optischen Eigenschaften, wie einer Verschiebung des Maximums des Streuvermögens in den UV-Bereich im Vergleich zu den Makropigmenten, womit eine verbesserte kosmetische Akzeptanz der Produkte verbunden ist.

Mit der verringerten Partikelgröße gehen weiterhin eine vergrößerte Oberfläche und eine verringerte Dichte einher.

Die untersuchten unterschiedlichen Titandioxid Mikropartikel (Tiosorb UF01, Eusolex® T-2000 und Eusolex® T-Eco) weisen ebenfalls sehr unterschiedliche physikochemische Eigenschaften im Bezug auf Oberfläche, Dichte und Porenvolumen auf. Das Titandioxid Tiosorb UF01 zeigt im Vergleich zu den Eusolex® Qualitäten geringere Werte bei der Oberfläche, Dichte und Porenvolumen Bestimmung. Die veränderten physikochemischen Eigenschaften beruhen zum Teil auf Unterschieden in der aufgetragenen Oberflächenbeschichtung, welche auch für eine verbesserte Photostabilität der Titandioxid Mikropartikel verantwortlich ist.

Verbunden mit der verringerten Partikelgröße und der damit vergrößerten Oberfläche ist eine verstärkte Gefahr der Agglomeration und Sedimentation der Mikropartikel. Beide Phänomene würden innerhalb der Formulierung zu einem verringerten Lichtschutzfaktor führen. Neben der Verringerung der Agglomerationsneigung der Mikropartikel durch die gegebene Oberflächenbeschichtung wurde eine Verringerung der Sedimentation durch den Einsatz der Viskositätserhöher Aerosil® und HPMC versucht. Die Erhöhung der Viskosität der Formulierung durch den Zusatz von Titandioxid konnte durch die rheologischen Messungen ebenso gezeigt werden wie die von der Aerosil® und HPMC Konzentration abhängige Erhöhung der Viskosität. Eine Aussage über die Effektivität der galenischen Stabilisierung durch die rheologische Überprüfung der unterschiedlichen Segmente der Lagergefäße war jedoch nicht eindeutig zu treffen.

Weiterhin konnte gezeigt werden, daß bei Anwendung der mizellaren Formulierung kein Einfluß der viskositätserhöhenden Stoffe Aerosil® und HPMC auf die



Penetrationsprofile der Titandioxid Mikropartikel im humanen Stratum corneum zu beobachten war.

Deutlich wurde jedoch die Abhängigkeit der Penetration von der verwendeten Formulierung, in die die Titandioxid Mikropartikel eingearbeitet wurden. Die Unterschiede traten besonders nach Reinigung des zu untersuchenden Hautbereiches auf. Nach Anwendung der mizellaren Formulierung war nach vorgeschalteter Reinigung des Hautbereiches in tieferen Schichten des Stratum corneums kein Titandioxid detektierbar.

Ein konträres Bild zeigte sich nach Anwendung der liposomalen Formulierung, wo eine verbesserte Wasserbeständigkeit der Titandioxid Mikropartikel gezeigt werden konnte, welche mit einer Penetration der Mikropartikel erklärt werden kann.

Erkenntnisse über mögliche Penetrationswege der Titandioxid Mikropartikel konnten die transmissionselektronenmikroskopischen Aufnahmen der von den Hautbereichen genommenen Strips geben. Die Aufnahmen zeigen die Anreicherung der Titandioxid Mikropartikel in den die Korneozyten umgebenden Spalten. Der vermutete Hauptweg der Penetration über die interzelluläre Route wird durch das Ergebnis eines Penetrationsexperiments unter Anwendung der mizellaren Formulierung mit Zusatz des Penetrationenhancers Dimethylsulfoxid bestätigt. Infolge des Einsatzes des Penetrationenhancers kommt es zur Zerstörung der interzellulären Lipidbilayer, welches zu einer erhöhten Fluidität in diesem Bereich führt und damit zu einem verringerten Diffusionswiderstand. Auf diese Weise gelangen Titandioxid Mikropartikel in tieferliegende Stratum corneum Schichten – die Lichtschutzformulierung besitzt so eine verbesserte Wasserbeständigkeit.

Die im Institut für Experimentelle Physik II der Universität Leipzig durchgeführten Penetrationsuntersuchungen an porciner Haut zeigten eine Penetration der Titandioxid Mikropartikel bis in Bereiche des Stratum granulosums.

Aufgrund der Untersuchungsbefunde an humaner Haut ist ebenfalls von einer Penetration der Titandioxid Mikropartikel bis in tiefere Bereiche wenigstens des Stratum corneums auszugehen. Insofern ist das Schweinemodell trotz gewisser Vorbehalte hinsichtlich der Vergleichbarkeit dennoch als bestmöglicher Vergleich zu Humanhaut zu bewerten.

## 7. Literaturverzeichnis

- [1] Produktinformationen der Firma RONA/MERCK zur Eusolex®-Reihe
- [2] Kindl, G., Raab, W., Licht und Haut – Bräunung Lichtschutz Pflege, 3. neubearbeitete Auflage, Govi-Verlag, Frankfurt am Main (1993)
- [3] Kindl, G. Sonnenschutzmittel: Aufbau – Anwendung – Beratung, Pharmazeutische Zeitung, 21 (1987) 1263-1268
- [4] Neumüller, O.A., Römpps Chemie-Lexikon, 8. neubearbeitete und erweiterte Auflage, Franckh'sche Verlagshandlung, W. Keller & Co., Stuttgart (1988)
- [5] Umbach, W., Kosmetik: Entwicklung, Herstellung und Anwendung kosmetischer Mittel, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1988)
- [6] Nolting, S., Nutzen und Risiko des Sonnenlichtes auf die Haut, Pharmazie in unserer Zeit, 11 (1982) 33
- [7] Raab, W., Ultraviolettstrahlung A, Bewährtes – Neues – Schutz, Apotheken-Journal, 20 (5) (1998) 160-164
- [8] Kaidbey, K.H., Kligman, A.M., Further studies of photoaugmentation in human phototoxic reaction, Journal of Investigative Dermatology, 65 (1975) 462
- [9] Bommannan, D., Potts, R.O., Guy, R.H., Examination of stratum corneum barrier function in vivo by infrared spectroscopy, Journal of Investigative Dermatology, 95 (1990) 403-408
- [10] Schauder, S., UVA-Photoprotektion durch Sonnenschutzmittel: Perspektiven, Kosmetische Medizin, 21 (2) (2000) 76-80

- [11] Kindl, G., Kennzeichnung von Sonnenschutzmitteln, Apotheken-Journal, 20 (5) (1998) 152-158
- [12] Mutschler, E., Arzneimittelwirkungen: Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie, 7. neu bearbeitete Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart (1996)
- [13] Bennat, C., Lichtschutz mit Mikropigmenten – Beitrag zur physikalischen Charakterisierung, galenischen Stabilisierung und Untersuchung des Penetrationsverhaltens von mikrofeinem Titandioxid und Zinkoxid, Dissertation TU Braunschweig (1999)
- [14] Proebstle, T.M., Risiko UVA-Strahlung, PTA heute, 8 (1998) 773-778
- [15] UV-Strahlung schädigt DNA, Kosmetische Medizin, 6 (2) (1995) 18
- [16] Kowalzik, L., Sonne und Immunsystem, Kosmetische Medizin, 6 (2) (1995) 15-18
- [17] Kindl, G., Sonnenschutzmittel – Was gibt es Neues ?, Kosmetische Medizin, 6 (2) (1995) 3-14
- [18] Bruhn, W., Sonnenstrahlung, Sonnenschutz und die Bräunung der menschlichen Haut (III), Deutsche Apotheker-Zeitung, 117 (1977) 1872-1876
- [19] Benninghoff, A., Makroskopische und mikroskopische Anatomie des Menschen, Urban & Schwarzenberg, München (1985)
- [20] Hönigsmann, H., Vortrag über Micro-Pigmente die neue Dimension im Sonnenschutz, Deutsche Drogisten Zeitung, 4 (1989) 46-47
- [21] Raab, W., Kindl, U., Pflegekosmetik, 3. Auflage Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart (1999)

- [22] Klöhn, W., Entwicklung und Optimierung von Sonnenschutzcremes, SÖFW-Journal, 119 (11) (1993) 650-653
- [23] Ziegenmeyer, J., The influence of the vehicle on the absorption and permeation of drug, in: Dermal and transdermal absorption, Brandau, R., Lippold, B. (Hrsg.) Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart (1982)
- [24] Treffel, P., Gabard, B., Skin penetration and sun protection factor of ultra-violet filters from two vehicles, Pharmaceutical Research, 13 (5) (1996) 770-774
- [25] Wissing, S.A., Müller, R.H., Solid lipid nanoparticles as carrier for sunscreens: in vitro release and in vivo skin penetration, Journal of Controlled Release, 81 (2002) 225-233
- [26] Pflücker, F., Guinard, H., Lapidot, N., Chaudhuri, R., Marchio, F., Driller, H., Sunglasses for the skin – Eusolex<sup>®</sup> UV-Pearls<sup>™</sup>: Reduction of dermal UV filter uptake and in vivo SPF boost, Euro Cosmetics, 10 (5) (2002) 24-27
- [27] Rottman, C., Gans, O., Lapidot, N., Advanced sunscreens: UV absorbers entrapped in glass microcapsules, Euro Cosmetics, 1 (2000) 20-22
- [28] Lorenzetti, O.J., The influence of protein vehicles on the penetrability of sunscreens, Journal of the Society of Cosmetics Chemists, 26 (1997) 593 ff
- [29] Kindl, G., Sonnenschutz – Bewährtes, Neues und Wissenswertes für die Beratung, Pharmazeutische Zeitung, 21 (1991) 1329-1344
- [30] Tichy, S., Transparentes TiO<sub>2</sub> zum UV-Schutz, SÖFW-Journal, 118 (10) (1992) 612-616
- [31] Raab, W., Kinder und Sonnenschutz, Pharmazeutische Zeitung, 139 (5) (1994) 369-374

- [32] Tronnier, H., Heinrich, U., Körperpflege als Ergänzung der dermatologischen Therapie ?, Parfümerie und Kosmetik, 3 (1997) 10-15
- [33] Greenwood, N.N., Earnshaw, A., Chemie der Elemente, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim (1988)
- [34] Griebler, W.-D., Titandioxid – ein anorganischer Rohstoff in der Kosmetik, SÖFW-Journal, 113 (20) (1987) 765-771
- [35] Driller, H., Lichtschutz mit Mikropigmenten – eine besondere galenische Herausforderung, Parfümerie und Kosmetik, 8 (1995) 486-488
- [36] Hemmerle, J., Msika, P., Elektronenmikroskopische Prüfung der Dispersion von  $\text{TiO}_2$  in Abhängigkeit von der Formulierung, Akt. Dermatol. 22 Sonderheft 2 (1996) Georg Thieme Verlag 83-86
- [37] Deller, K., Ettlinger, M., Fischer, S., Weinand, R., Highly dispersed titaniumdioxide for use in sunscreens, Euro Cosmetics, 5 (10) (1997) 56-63
- [38] Tichy, S., Transparent ZnO for skin- and sunprotection, SÖFW-Journal, 119 (8) (1993) 487-490
- [39] Sayre, R.M., Kollias, N., Roberts, R.L., Baqer, A., Sadiq, I., Physical sunscreens, Journal of The Society of Cosmetic Chemists, 41 (March/April) (1990) 103-109
- [40] Wallner, R., Habernegg, R., Boos, H., Zur Untersuchung, Bewertung und rechtlichen Beurteilung von Sonnenschutzmitteln, SÖFW-Journal, 120 (9) (1994) 504-510
- [41] Tronnier, H., Neues zum Lichtschutz und der Bewertung von Lichtschutzmitteln, Apotheken-Journal, 5 (1997) 16-21

- [42] Hancock-Chen, T., Scaiano, J.C., Enzyme inactivation by TiO<sub>2</sub> photosensitization, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 57 (2000) 193-196
- [43] Judin, V.P.S., Salonen, T., Charakteristika von hochleistendem ultrafeinen Titandioxid benutzt als UV-Schutzfilter, *SÖFW-Journal*, 119 (8) (1993) 491-496
- [44] Christ, R., Sun protection formulations safety and efficacy, *Euro Cosmetics*, 3-4 (1994) 58-62
- [45] Ahlnäs, J.T., Judin, V.P.S., The influence of phase structure and aggregation on SPF using ultrafine TiO<sub>2</sub> pigment, *Proceedings Incosmetics*, Paris (1995) 193-218
- [46] Hemmerle, J., Msika, P., Gooris, E., An electron microscopical approach to efficacy screening of physical sunscreens, *Journal of the Society of Cosmetics Chemists*, 47 (1996) 59-72
- [47] Jani, P.U., McCarthy, D.E., Florence, A.T., Titanium dioxide (rutile) particle uptake from the rat GI tract and translocation to systemic organs after oral administration, *International Journal of Pharmaceutics*, 105 (1994) 157-168
- [48] Böckmann, J., Lahl, H., Unterhalt, B., Titan-Blutspiegel vor und nach Belastungsversuchen mit Titandioxid, *Pharmazie*, 55 (2) (2000) 140-143
- [49] Breitzkreutz, J., Kayser, O., Studies on the uptake and migration of titanium dioxide particles in macrophagic raw 264.7 cells, *Proceedings 4<sup>th</sup> world meeting ADRITELF/APGI/APV*, Florenz (2002) 783-784
- [50] Mitchnick, M.A., Zinc oxide, an old friend to the rescue, *Cosmetics and Toiletries*, 107 (1992) 111-116

- [51] Mitchnick, M.A., Microfine zinc oxide: Broad spectrum sun protection for everyday use, *Cosmetics and Toiletries Manufacture Worldwide* (1994) 192-197
- [52] Wünsch, T., Aspects of modern UV-filters – performance and stability, *Kosmetische Medizin*, 21 (2) (2000) 72-75
- [53] Junqueira, L.C., Carneiro, J., *Histologie: Zytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen; unter Berücksichtigung der Histophysiologie*, 3. Auflage, Springer Verlag Berlin (1991)
- [54] Ziegenmeyer, J., Transdermale Applikation von Arzneistoffen, *Pharmazeutische Zeitung*, 134 (18) (1989) 1085-1091
- [55] Neubert, R., Schmalfuß, U., Wohlrab, W., Huschka, C., Wirkstoffpenetration in die Haut und deren Modulation, *Pharmazeutische Zeitung*, 141 (17) (1996) 1483-1493
- [56] Barry, B.W., Mode of action of penetration enhancers in human skin, *Journal of Controlled Release*, 6 (1987) 85-97
- [57] Lademann, J., Weigmann, H.-J., Rickmeyer, C., Barthelmes, H., Schaefer, H., Mueller, G., Sterry, W., Penetration of Titanium Dioxide Microparticles in a Sunscreen Formulation into the Horny Layer and the Follicular Orifice, *Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology*, 12 (1999) 247-256
- [58] Bennat, C., Müller-Goymann, C.C., Skin penetration and stabilization of formulations containing microfine titanium dioxide as physical UV filter, *International Journal of Cosmetic Science*, 22 (2000) 271-283

- [59] Weigmann, H.-J., Lademann, J., Meffert, H., Schaefer, H., Sterry, W., Determination of the horny layer profile by tape stripping in combination with optical spectroscopy in the visible range as a prerequisite to quantify percutaneous absorption, *Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology*, 12 (1999) 34-45
- [60] Tan, M.H., Commens, C., Burnett, L., Snitch, P.J., A pilot study on the percutaneous absorption of microfine titanium dioxide from sunscreens, *Australasian Journal of Dermatology*, 37 (1996) 185-187
- [61] Egbaria, K., Weiner, N., Liposomes as a topical drug delivery system, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 5 (1990) 287-300
- [62] Potard, G., Laugel, C., Schaefer, H., Marty, J.-P., The stripping technique: In vitro absorption and penetration of five UV filters on excised fresh human skin, *Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology*, 13 (2000) 336-344
- [63] Pinkus, H., Examination of the epidermis by strip method of removing horny layer. I. Observation on thickness of the horny layer, and on mitotic activity after stripping, *Journal of Investigative Dermatology*, 16 (1951) 383-386
- [64] van der Molen, R.G., Spies, F., van't Noordende, J.M., Boelsma, E., Mommaas, A.M., Koerten, H.K., Tape stripping of human stratum corneum yields cell layers that originate from various depths because of furrows in the skin, *Archives of Dermatological Research*, 289 (1997) 514-518
- [65] Produktinfo Worlèe
- [66] Produktinfo Merck
- [67] Produktinfo Merck; Pressemitteilung Merck vom 9.4.2002
- [68] Produktinfo Solaveil



- [69] Garcia Sagrado, F., Guzman, M., Molpeceres J. Aberturas, M.R., Pluronic copolymers – characteristics, properties and pharmaceutical application: part I, Pharmaceutical Technology Europe, May (1994) 45-56
- [70] Garcia Sagrado, F., Guzman, M., Molpeceres J. Aberturas, M.R., Pluronic copolymers – characteristics, properties and pharmaceutical application: part II, Pharmaceutical Technology Europe, June (1994) 38-44
- [71] Fiedler, H.P., Lexikon der Hilfsstoffe, Editio-Cantor-Verlag (1996)
- [72] Phospholipid Produktinformation
- [73] Produktinfo Degussa homepage (homepage: [www.degussa.de](http://www.degussa.de))
- [74] Marks, R., Taking a look into skin, Skin Care Forum, 26 (2001) (homepage: [www.scf-online.com](http://www.scf-online.com))
- [75] Glüer, S., Fuchs, J., Petersen, C., Primärer Wundverschluß im Kindesalter, Kinderärztliche Praxis, 8 (1999) 534-540
- [76] Gabard, B., Treffel, P., Bieli, E., Schwab, S., In-vitro-Messung des Lichtschutzfaktors, Akt. Dermatol. 22 Sonderheft 1 (1996) Georg Thieme Verlag 25-30
- [77] Sellers, R.L., Carpenter, F.G., An instrument for in-vitro determinations of SPF, Cosmetics and toiletries, 107 (10) (1992) 119-122
- [78] Diffey, B.L., Robson, J., A new substrate to measure sunscreen protection factors throughout the ultraviolet spectrum, J Soc Cosm Chem 40 (3) (1989) 123-133
- [79] Anders, A., Knälmann, M., Spektrale Empfindlichkeitsmessung im UV, Ärztliche Kosmetologie, 17 (1987) 434

- [80] Tronnier, H., Hölzner, B., Heinrich, U. Kockott, D., Reubke-Gothe, B., Zur Praxis der in vitro-Bewertung von Sonnenschutzmitteln, Kosmetische Medizin 18 Doppelheft 5/6 Dezember 1997/Januar 1998 344-350
- [81] Finkel, P., Kosmetische Sonnenschutzmittel, Kosmetische Medizin, 21 (2) (2000) 107-108
- [82] Mason, J.T., Quantitative determination of titanium dioxide in a commercial sunscreen formulation by atomic absorption spectrometry, Journal of Pharmaceutic Sciences, 69 (1980) 101-102
- [83] Gottbrath, S., Grünefeld, J., Müller-Goymann, C.C., Atomic absorption spectrometry for the determination of physical sunscreen filters, Trends In Dermatopharmacy Volume 1 (Wohlrab, Neubert, Marsch) Shaker Verlag (2002) 70-79
- [84] Skipor, A.K., Jacobs, J.J., Schavocky, J., Black, J., Galante, J.O., Determination of titanium in human serum by zeeman electrothermal atomic absorption spectroscopy, Atomic Spectroscopy, 5/6 (1994) 131-134
- [85] Welz, B., Sperling, M., Atomabsorptionsspektroskopie, Wiley-VCH Weinheim (1997)
- [86] Gerätehandbuch des Atomabsorptionsspektrometers Perkin Elmer 2380
- [87] Goodhew, P.J., Humphreys, F.J., Elektronenmikroskopie – Grundlagen und Anwendung, 2. Auflage, McGraw-Hill Book Company London (1988)
- [88] Menzel, F., Ionenstrahlanalytische Untersuchung der perkutanen Aufnahme von ultrafeinen Partikeln, Diplomarbeit Universität Leipzig, Institut für Experimentelle Physik II, Arbeitsgruppe Nukleare Festkörperphysik (2002)

- [89] Brunauer, S., Emmett, P.H., Teller, E., Adsorption of gases in multimolecular layers, *Journal of the American Chemical Society*, 60 (1938) 309-319
- [90] Betriebshandbuch Coulter® SA3100, Oberflächen und Porengrößenanalysator, COULTER Electronics GmbH, Krefeld, Deutschland
- [91] Barrett, E.P., Joyner, L.G., Halenda, P.P, The determination of pore volume and area distributions in porous substances. I. Computations from nitrogen isotherms, *Journal of the American Chemical Society*, 73 (1951) 373-380
- [92] Dussert, A.S., Gooris, E., Hemmerle, J., Characterization of the mineral content of a physical sunscreen emulsion and its distribution onto human stratum corneum, *International Journal of Cosmetic Science*, 19 (1997) 119-129
- [93] Uchegbu, I.F., Parenteral drug delivery: 2, *The Pharmaceutical Journal*, 236 (1999) 355-358
- [94] Robinson, D.G., Ehlers, U., Herken, R., Herrmann, B., Mayer, F., Schürmann, F.W., *Präparationsmethodik in der Elektronenmikroskopie*, Springer Verlag Berlin (1985)
- [95] Roehl, E.L., A company made her name in maximum sunprotection, *Euro Cosmetics*, 3 (1995) 58-61
- [96] Hamann, H.J., Wechselwirkungen mesogener Arzneistoffe mit kolloidalen Lecithinassoziaten am Beispiel des Fenoprofens, , *Dissertation TU Braunschweig* (1990)
- [97] Wohlrab, W., Lasch, J., Taube, K.M., Wozniak, K.D., Hautpermeation von liposomal inkorporiertem Hydrocortison, *Pharmazie*, 44 (1989) 333-335

- [98] Kriwet, K., Müller-Goymann, C.C., Diclofenac release from phospholipid drug systems and permeation through excised human stratum corneum, International Journal of Pharmaceutics, 125 (1995) 231-242
  
- [99] Gottbrath, S., Müller-Goymann, C.C., Penetration and visualization of titanium dioxide microparticles in human stratum corneum – effect of different formulations on the penetration of titanium dioxide, SÖFW-Journal, 129 (3) (2003) 11-17
  
- [100] Gottbrath, S., Müller-Goymann, C.C., Localization of titanium dioxide microparticles in the horny layer, in: The essential stratum corneum, Eds. R. Marks, J.-I. Lévêque, R. Voegeli, Martin Dunitz, Ltd, London (2002) 207-209
  
- [101] Meyer, W., Bemerkungen zur Eignung der Schweinehaut als biologisches Modell für die Haut des Menschen, Hautarzt, 47 (1996) 178-182
  
- [102] Meyer, W., Die Haut des Schweines, Archiv für tierärztliche Fortbildung Band 9, Schlütersche (1986)

## 8. Anhang

### 8.1. Einzelwerte der Lichtschuttfaktorbestimmung

Homogenisierungszyklen	Einzelwerte Lichtschuttfaktor	Mittelwert	Standardabweichung
0 Zyklen	6,9 5,4 7,0	6,4	0,9
5 Zyklen	8,7 7,5 9,8	8,7	1,2
10 Zyklen	7,9 7,7 8,7	8,1	0,5

Tabelle 8.1: Einfluß der Homogenisierungszyklen auf den Lichtschuttfaktor der mizellaren Formulierung

Einzelwerte Lichtschuttfaktor	Mittelwert	Standardabweichung
3,3 2,5 3,6	3,1	0,6

Tabelle 8.2: Lichtschuttfaktorbestimmung der liposomalen Formulierung

Konzentration von TiO <sub>2</sub> und HPMC [%]	Einzelwerte Lichtschuttfaktor	Mittelwert	Standardabweichung
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 0%	8,9 7,4 6,6	7,6	1,2
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 1%	8,4 10,6 9,0	9,3	1,1
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 2%	10,3 9,8 11,2	10,4	0,7
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 3%	11,3 11,1 11,0	11,1	0,2

Tabelle 8.3: Lichtschuttfaktoren der HPMC stabilisierten mizellaren Formulierung

## 8.2. Einzelwerte der rheologischen Messungen zur Lagerstabilität der titandioxidhaltigen Formulierungen

Im folgenden sind die Viskositäten der Formulierungen bei einer Schubspannung von 40 Pa aufgeführt. Sie werden unterschieden nach den gemessenen Viskositäten im oberen- bzw. unteren Segment des Probengefäßes. Es wurden Doppelbestimmungen in jedem Segment des Probengefäßes durchgeführt. Sowohl die Werte für die Proben welche bei Raumtemperatur gelagert wurden, als auch die Werte für die Lagerung im Schaukelschrank sind unter Angabe der entsprechenden Lagerzeit aufgeführt.

### 8.2.1. Messungen der Aerosil® stabilisierten mizellaren Formulierungen

#### 8.2.1.1. Lagerung bei Raumtemperatur

Konzentration von TiO <sub>2</sub> und Aerosil® 200 [%]	Segment der Probenentnahme	Viskosität bei 40 Pa [Pas]
TiO <sub>2</sub> 0%, Aerosil® 0%	oberes Segment	0,10
		0,09
	unteres Segment	0,07
		0,08
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 0%	oberes Segment	0,18
		0,16
	unteres Segment	0,14
		0,14
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 1%	oberes Segment	0,28
		0,25
	unteres Segment	0,24
		0,25
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 2%	oberes Segment	0,32
		0,33
	unteres Segment	0,32
		0,32
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 4%	oberes Segment	0,50
		0,50
	unteres Segment	0,50
		0,50

Tabelle 8.4: Viskositäten der Aerosil®-haltigen Titandioxid Formulierungen nach 4 Tagen Lagerung

Konzentration von TiO <sub>2</sub> und Aerosil® 200 [%]	Segment der Probenentnahme	Viskosität bei 40 Pa [Pas]
TiO <sub>2</sub> 0%, Aerosil® 0%	oberes Segment	0,12
		0,09
	unteres Segment	0,07
		0,07
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 0%	oberes Segment	0,16
		0,15
	unteres Segment	0,15
		0,16
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 1%	oberes Segment	0,29
		0,25
	unteres Segment	0,23
		0,24
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 2%	oberes Segment	0,31
		0,31
	unteres Segment	0,32
		0,33
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 4%	oberes Segment	0,32
		0,54
	unteres Segment	0,51
		0,51

Tabelle 8.5: Viskositäten der Aerosil®-haltigen Titandioxid Formulierungen nach 11 Tagen Lagerung

Konzentration von TiO <sub>2</sub> und Aerosil® 200 [%]	Segment der Probenentnahme	Viskosität bei 40 Pa [Pas]
TiO <sub>2</sub> 0%, Aerosil® 0%	oberes Segment	-
	unteres Segment	0,07
		0,08
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 0%	oberes Segment	0,08
	unteres Segment	0,17
		0,16
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 1%	oberes Segment	0,16
	unteres Segment	0,16
		0,15
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 2%	oberes Segment	0,28
	unteres Segment	0,27
		0,26
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 4%	oberes Segment	0,28
	unteres Segment	0,31
		0,33
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 2%	oberes Segment	0,37
	unteres Segment	0,35
		0,35
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 4%	oberes Segment	0,51
	unteres Segment	0,54
		0,53
		0,55

Tabelle 8.6: Viskositäten der Aerosil®-haltigen Titandioxid Formulierungen nach 18 Tagen Lagerung



Konzentration von TiO <sub>2</sub> und Aerosil® 200 [%]	Segment der Probenentnahme	Viskosität bei 40 Pa [Pas]
TiO <sub>2</sub> 0%, Aerosil® 0%	oberes Segment	0,10
		0,09
	unteres Segment	0,08
		0,08
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 0%	oberes Segment	0,15
		0,16
	unteres Segment	0,15
		0,16
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 1%	oberes Segment	0,26
		0,24
	unteres Segment	0,22
		0,34
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 2%	oberes Segment	0,38
		0,34
	unteres Segment	0,43
		0,42
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 4%	oberes Segment	0,51
		0,47
	unteres Segment	0,48
		0,51

Tabelle 8.7: Viskositäten der Aerosil®-haltigen Titandioxid Formulierungen nach 26 Tagen Lagerung

**8.2.1.2. Lagerung im Schaukelschrank**

Konzentration von TiO <sub>2</sub> und Aerosil® 200 [%]	Segment der Probenentnahme	Viskosität bei 40 Pa [Pas]
TiO <sub>2</sub> 0%, Aerosil® 0%	oberes Segment	0,07
		0,07
	unteres Segment	0,05
		0,06
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 0%	oberes Segment	0,50
		0,15
	unteres Segment	0,11
		0,14
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 1%	oberes Segment	0,13
		0,71
	unteres Segment	0,41
		0,19
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 2%	oberes Segment	0,64
		0,45
	unteres Segment	0,20
		0,21
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 4%	oberes Segment	0,40
		0,39
	unteres Segment	0,37
		0,33

Tabelle 8.8: Viskositäten der Aerosil®-haltigen Titandioxid Formulierungen nach 4 Tagen Lagerung

Konzentration von TiO <sub>2</sub> und Aerosil® 200 [%]	Segment der Probenentnahme	Viskosität bei 40 Pa [Pas]
TiO <sub>2</sub> 0%, Aerosil® 0%	oberes Segment	0,05
		0,06
	unteres Segment	0,05
		0,05
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 0%	oberes Segment	0,16
		0,29
	unteres Segment	0,15
		0,19
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 1%	oberes Segment	0,13
		0,13
	unteres Segment	0,14
		0,16
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 2%	oberes Segment	0,18
		0,18
	unteres Segment	0,19
		0,20
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 4%	oberes Segment	0,31
		0,32
	unteres Segment	0,29
		0,32

Tabelle 8.9: Viskositäten der Aerosil®-haltigen Titandioxid Formulierungen nach 11 Tagen Lagerung

Konzentration von TiO <sub>2</sub> und Aerosil® 200 [%]	Segment der Probenentnahme	Viskosität bei 40 Pa [Pas]
TiO <sub>2</sub> 0%, Aerosil® 0%	oberes Segment	0,05
		0,04
	unteres Segment	0,06
		0,05
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 0%	oberes Segment	0,09
		0,15
	unteres Segment	0,15
		0,11
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 1%	oberes Segment	0,15
		0,13
	unteres Segment	0,16
		0,15
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 2%	oberes Segment	0,19
		0,17
	unteres Segment	0,24
		0,22
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 4%	oberes Segment	0,23
		0,21
	unteres Segment	0,26
		0,26

Tabelle 8.10: Viskositäten der Aerosil®-haltigen Titandioxid Formulierungen nach 18 Tagen Lagerung

Konzentration von TiO <sub>2</sub> und Aerosil® 200 [%]	Segment der Probenentnahme	Viskosität bei 40 Pa [Pas]
TiO <sub>2</sub> 0%, Aerosil® 0%	oberes Segment	0,05
		0,05
	unteres Segment	0,04
		-
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 0%	oberes Segment	0,11
		0,12
	unteres Segment	0,11
		0,11
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 1%	oberes Segment	0,12
		0,12
	unteres Segment	0,15
		0,16
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 2%	oberes Segment	0,16
		0,19
	unteres Segment	0,26
		0,24
TiO <sub>2</sub> 5%, Aerosil® 4%	oberes Segment	0,34
		0,29
	unteres Segment	0,35
		0,33

Tabelle 8.11: Viskositäten der Aerosil®-haltigen Titandioxid Formulierungen nach 26 Tagen Lagerung

## 8.2.2. Messungen der HPMC stabilisierten mizellaren Formulierungen

### 8.2.2.1. Lagerung bei Raumtemperatur

Konzentration von TiO <sub>2</sub> und HPMC [%]	Segment der Probenentnahme	Viskosität bei 40 Pa [Pas]
TiO <sub>2</sub> 0%, HPMC 0%	oberes Segment	0,11
		0,13
	unteres Segment	0,13
		0,13
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 0%	oberes Segment	0,18
		0,18
	unteres Segment	0,15
		0,18
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 1%	oberes Segment	0,20
		0,22
	unteres Segment	0,28
		0,33
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 2%	oberes Segment	0,58
		0,56
	unteres Segment	0,48
		0,48
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 3%	oberes Segment	0,80
		0,87
	unteres Segment	0,91
		0,92

Tabelle 8.12: Viskositäten der HPMC-haltigen Titandioxid Formulierungen nach 7 Tagen Lagerung

Konzentration von TiO <sub>2</sub> und HPMC [%]	Segment der Probenentnahme	Viskosität bei 40 Pa [Pas]
TiO <sub>2</sub> 0%, HPMC 0%	oberes Segment	0,10
		0,11
	unteres Segment	0,12
		0,10
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 0%	oberes Segment	0,18
		0,19
	unteres Segment	0,19
		0,21
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 1%	oberes Segment	0,21
		0,23
	unteres Segment	0,36
		0,37
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 2%	oberes Segment	0,51
		0,51
	unteres Segment	0,50
		0,53
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 3%	oberes Segment	0,69
		0,83
	unteres Segment	1,03
		1,03

Tabelle 8.13: Viskositäten der HPMC-haltigen Titandioxid Formulierungen nach 14 Tagen Lagerung

Konzentration von TiO <sub>2</sub> und HPMC [%]	Segment der Probenentnahme	Viskosität bei 40 Pa [Pas]
TiO <sub>2</sub> 0%, HPMC 0%	oberes Segment	0,10
		0,13
	unteres Segment	0,10
		0,08
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 0%	oberes Segment	0,16
		0,18
	unteres Segment	0,17
		0,20
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 1%	oberes Segment	0,22
		0,23
	unteres Segment	0,39
		0,36
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 2%	oberes Segment	0,50
		0,51
	unteres Segment	0,57
		0,53
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 3%	oberes Segment	0,75
		0,80
	unteres Segment	1,04
		0,94

Tabelle 8.14: Viskositäten der HPMC-haltigen Titandioxid Formulierungen nach 21 Tagen Lagerung



Konzentration von TiO <sub>2</sub> und HPMC [%]	Segment der Probenentnahme	Viskosität bei 40 Pa [Pas]
TiO <sub>2</sub> 0%, HPMC 0%	oberes Segment	0,12
		0,12
	unteres Segment	0,12
		0,11
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 0%	oberes Segment	0,19
		0,19
	unteres Segment	0,20
		0,20
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 1%	oberes Segment	0,22
		0,24
	unteres Segment	0,44
		0,36
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 2%	oberes Segment	0,52
		0,52
	unteres Segment	0,61
		0,62
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 3%	oberes Segment	0,99
		0,93
	unteres Segment	0,98
		0,99

Tabelle 8.15: Viskositäten der HPMC-haltigen Titandioxid Formulierungen nach 28 Tagen Lagerung

### 8.2.2.2. Lagerung im Schaukelschrank

Konzentration von TiO <sub>2</sub> und HPMC [%]	Segment der Probenentnahme	Viskosität bei 40 Pa [Pas]
TiO <sub>2</sub> 0%, HPMC 0%	oberes Segment	-
	unteres Segment	0,12
		0,11
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 0%	oberes Segment	0,10
	unteres Segment	0,17
		0,16
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 1%	oberes Segment	0,16
	unteres Segment	0,16
		0,18
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 2%	oberes Segment	0,21
	unteres Segment	0,23
		0,25
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 3%	oberes Segment	0,32
	unteres Segment	0,36
		0,41
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 3%	oberes Segment	0,58
	unteres Segment	0,56
		2,54
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 3%	oberes Segment	1,63
	unteres Segment	2,52
		0,56

Tabelle 8.16: Viskositäten der HPMC-haltigen Titandioxid Formulierungen nach 7 Tagen Lagerung

Konzentration von TiO <sub>2</sub> und HPMC [%]	Segment der Probenentnahme	Viskosität bei 40 Pa [Pas]
TiO <sub>2</sub> 0%, HPMC 0%	oberes Segment	0,10
		0,13
	unteres Segment	0,10
		0,10
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 0%	oberes Segment	0,17
		-
	unteres Segment	0,16
		0,20
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 1%	oberes Segment	0,20
		0,19
	unteres Segment	0,36
		0,35
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 2%	oberes Segment	0,67
		0,59
	unteres Segment	0,46
		0,47
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 3%	oberes Segment	1,57
		1,39
	unteres Segment	0,78
		0,71

Tabelle 8.17: Viskositäten der HPMC-haltigen Titandioxid Formulierungen nach 14 Tagen Lagerung

Konzentration von TiO <sub>2</sub> und HPMC [%]	Segment der Probenentnahme	Viskosität bei 40 Pa [Pas]
TiO <sub>2</sub> 0%, HPMC 0%	oberes Segment	-
	unteres Segment	0,12
		0,08
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 0%	oberes Segment	0,09
	unteres Segment	0,15
		0,15
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 1%	oberes Segment	0,18
	unteres Segment	0,20
		0,22
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 2%	oberes Segment	0,22
	unteres Segment	0,35
		0,38
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 3%	oberes Segment	0,65
	unteres Segment	0,66
		0,53
	oberes Segment	0,39
	unteres Segment	2,53
		1,37
	oberes Segment	0,91
	unteres Segment	0,86
		0,86

Tabelle 8.18: Viskositäten der HPMC-haltigen Titandioxid Formulierungen nach 21 Tagen Lagerung

Konzentration von TiO <sub>2</sub> und HPMC [%]	Segment der Probenentnahme	Viskosität bei 40 Pa [Pas]
TiO <sub>2</sub> 0%, HPMC 0%	oberes Segment	0,17
		0,14
	unteres Segment	0,10
		0,11
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 0%	oberes Segment	0,17
		0,17
	unteres Segment	0,17
		0,20
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 1%	oberes Segment	0,22
		0,26
	unteres Segment	0,44
		0,37
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 2%	oberes Segment	0,70
		0,69
	unteres Segment	-
		-
TiO <sub>2</sub> 5%, HPMC 3%	oberes Segment	2,00
		1,86
	unteres Segment	0,76
		0,67

Tabelle 8.19: Viskositäten der HPMC-haltigen Titandioxid Formulierungen nach 28 Tagen Lagerung